ORSAY
Série A, N°
N° D'ordre :
834

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean J. LEGER

DIFFUSION LIBRE DE TRANSLATION DES MACROMOLECULES BIOLOGIQUES EN SOLUTION PAR INTERFEROMETRIE DE RAYLEIGH

Soutenue le 6 juillet 1971, devant la Commission d'Examen

M.	J.	TONNELAT	Président
Mme	F.	MADAULE	
MM.	Y.	ARNAUD	Examinateurs
	P.	FALLOT	

T H E S E

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean J. LEGER

DIFFUSION LIBRE DE TRANSLATION DES MACROMOLECULES BIOLOGIQUES EN SOLUTION PAR INTERFEROMETRIE DE RAYLEIGH

Soutenue le 6 juillet 1971, devant la Commission d'Examen

M.	J.	TONNELAT	Président
Mme	F.	MADAULE	
MM.	Y.	ARNAUD	Examinateurs
	P.	FALLOT	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Jocelyne,

" Nous prendrons le temps d'être libre ... "

A nos Parents,

En témoignage de reconnaissance

J'ai effectué ce travail au Commissariat à l'Energie Atomique en tant que boursier thèse. Monsieur J. Coursaget, Chef du Département de Biologie, a bien voulu permettre à un physicien de s'initier à la biologie. Monsieur P. Fallot, Chef du Service de biophysique, a mis à ma disposition les moyens de réaliser ce travail. J'ai beaucoup apprécié ses conseils. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur J. Tonnelat, qui a accepté de diriger cette thèse et d'en présider le jury, m'a toujours réservé un accueil bienveillant. J'ai apprécié la grande liberté qu'il m'a laissée ainsi que les avis judicieux qu'il m'a donnés. Je remercie Madame le Professeur F. Madaule d'avoir bien voulu me faire l'honneur d'être membre du jury et de m'avoir guidé dans la correction de ce mémoire. Je veux exprimer tout ce que je dois à Monsieur Y. Arnaud, responsable du laboratoire de radiobiologie moléculaire. Il a guidé mes premiers pas en biologie et m'a proposé ce sujet de travail. Son amicale sollicitude m'a constamment encouragé et soutenu dans mes essais.

Je rends hommage à tous ceux qui, par leurs conseils, ont facilité cette étude. Monsieur le Professeur L.O Sundelöf m'a ouvert la voie des études de diffusion aux faibles concentrations. Messieurs M. Daune et L. Varoqui m'ont prêté un modèle de cellule à écoulement latéral et m'ont introduit dans l'étude de la polydispersité des solutions.

Je remercie Madame S. Acker pour l'appui théorique et technique qu'elle m'a donné dans la mise au point ultime de cette technique. J'exprime ma gratitude à Madame C. Langouet pour la persévérance et la rectitude dont elle a fait preuve dans la lecture des clichés d'interférence. Elle s'est acquittée avec dévouement de cette tâche ingrate.

Enfin que tous ceux qui ont collaboré à ce travail à des titres divers soient assurés de ma reconnaissance.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550026_0051

TABLE DES MATIERES

Liste des symboles employés page 4

INTRODUCTION 7

A. ASPECT THEORIQUE 9

A.1. Diffusion aux faibles concentrations 10

A.1.1. Solution de l'équation de FICK dans le cas idéal

A.1.2. Interférences de RAYLEIGH

A.1.3. Diffusion à plusieurs composés

A.1.4. Calcul de D_A

A.1.4.1. Détermination de $j_x'(x_m,t)$

A.1.4.2. Détermination de D_A et de Δt

A.1.5. Détermination de la référence

A.1.6. Diagramme indépendant du temps

A.1.7. Fonctions de déviation

A.1.7.1. Fonction de déviation $\omega(z)$

A.1.7.2. Fonction de déviation moyenne $\Omega(\varsigma)$

A.1.8. Effet de la concentration. Imperfections de la frontière

A.1.8.1. Effet de la concentration

A.1.8.2. Effet des imperfections dans la frontière

A.2. Polydispersité 21

A.2.1. Aspects généraux de la polydispersité

A.2.1.1. Valeurs moyennes des paramètres moléculaires

A.2.1.2. Calcul de $\Omega(\varsigma)$ à partir de f(M) et de h(D)

A.2.1.3. Valeurs moyennes D_1 et D_2

A.2.1.4. Formalisme général

A.2.2. Polydispersité continue

A.2.2.1 Solution numérique. Calcul de $\Omega(\varsigma)$

Etude mathématique de $\Omega(\varsigma)$

Propriétés de la distribution

Solution numérique. Programme CHATS

A.2.2.2. Calcul d'une distribution à partir des données expérimentales

A.2.2.2.1. Calcul de convolution

A.2.2.2.2. Méthode directe à partir de D_A et de Ω_{Max}

A.2.2.3. Discussion

A.2.3. Polydispersité discrète

A.2.3.1. Solution numérique M - D

A.2.3.2. Calcul d'une distribution D - M

A.2.3.2. Discussion

A.2.4. Discussion

B. ASPECT TECHNIQUE

B.1. Dispositif de mesure page 60

B.1.1. Bloc cellule

B.1.1.1. Cellule et débitmètres

B.1.1.2. Dispositif de mesure du grandissement

B.1.1.3. Stabilisation de la température

B.1.1.4. Masque

B.1.2. Optique

B.1.2.1. Réglage de l'optique

B.1.2.2. Source. Interfrange

B.2. Etude de la reproductibilité 69

B.2.1. Sensibilité de l'interféromètre

B.2.2. Nettoyage de la cellule

B.2.3. Préparation des produits

B.3. Etude de la frontière 71

B.3.1. Ecoulement laminaire latéral

B.3.2. Réalisation de la frontière

B.4. Lecture des Clichés 74

B.4.1. Mesure des clichés d'interférence

B.4.2. Précision du pointé. Alignement des clichés

Conclusion

C. ASPECT EXPERIMENTAL

C.1. Traitement numérique des données page 81

C.1.1. Généralités
C.1.2. Etape 1 : bloc UTINAM
C.1.3. Etape 2 : bloc DUX
C.1.4. Etape 3 : bloc EXEMPLAR

C.2. Résultats expérimentaux 103

C.2.1. Produits
C.2.2. Réalisation des expériences
C.2.3. Etude du coefficient de diffusion moyen D_A
C.2.4. Etude de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\varphi)$
C.2.5. Polydispersité discontinue
C.2.6. Précision des résultats expérimentaux.
C.2.7. Analyse homogène

CONCLUSION 125

ANNEXE : Description détaillée du segment D2 127

BIBLIOGRAPHIE 131

LISTE DES SYMBOLES

(à l'exclusion de ceux employés en langage FORTRAN)

a	Parcours de la lumière à travers la cellule (Figure 1A)
a_1, a_2, a_3	Constantes de la distribution des masses moléculaires (A.53)
A	Constante arbitraire (A.34)
b	Distance entre les deux fentes consécutives du masque de l'interféromètre (Figure 1A et 3B)
b_1, b_2	Constantes de la fonction de transfert entre la masse moléculaire et le coefficient de diffusion (A.39)
B	Constante arbitraire (A.34)
c	Concentration
c_A	Concentration du solvant (A.4)
c_B	Concentration du soluté (A.4)
c_i	Proportion du produit i dans un mélange (A.76)
$\bar{c}$	$(= (c_B+c_A)/2)$. Concentration moyenne (A.6)
d	Distance de la cellule à l'écran (Figure 1A)
d_i	Coefficient de diffusion du produit i (A.82)
D_A	Coefficient de diffusion moyen (A.1.4.)
D_i	Coefficient de diffusion du produit i (A.14) ou moyenne des coefficients de diffusion (A.82)
D_{ik}	Coefficient généralisé de diffusion (A.1.3.)
	Moyenne des coefficients de diffusion
f, f_0	Coefficients de friction (A.2.1.1.)
f, f_c, f_s	Transformées de Fourier de la fonction f: parties réelle et imaginaire (A.2.2.2.1.)
f_1, f_2, f_3	Fonctions utilisées dans le calcul de convolution (A.2.2.2.1.)
$f(j)$	Fonction d'onde normée (A.11)
$f(M)$	Fonction de fréquence des masses moléculaires (A.18)
$F(M)$	Fonction de distribution des masses moléculaires (A.18)
$g(c)$	$(= 2(c-\bar{c})/ c)$. Fonction normalisée (A.12)
$g_r(\sigma)$	Fonction utilisée dans le calcul de convolution (A.81)
$G_r(\zeta)$	Fonction utilisée dans le calcul de convolution (A.81)
$G(s)$	Transformée de Laplace (A.2.1.4.)

h	$(= (\sqrt{D/D'_A}-1))$ .Ecart moyen introduit en A.2.2.1.1.
$h_r(\xi)$	Transformée de Fourier (A.81)
$h(D)$	Fonction de fréquence des coefficients de diffusion (A.18)
$H(D)$	Fonction de distribution des coefficients de diffusion (A.18)
I, I_1, I_2	Integrales, introduites dans le calcul des moyennes des coefficients de diffusion (A.2.1.3.)
$j(x)$	Fonction d'onde (A.9)
$j'_x(x)$	Dérivée de la fonction d'onde par rapport à x
J	Valeur maximale du nombre d'onde (A.10)
J_0^2	Grandeur expérimentalement accessible (A.10)
k	Constante de BOLTZMANN
Ky	Interfrange (Figure 1A) et (B.1.)
$K_{2\sigma}$	Terme du développement de la dérivée j'_x (A.33)
l, l_0	Chemins optiques (Figure 1A)
L	Fonction, introduite en A.2.3.1.1.1.
L_1, L_2, L_3	Lentilles convergentes de l'interféromètre (Figure 4B)
m_k	Moments de la fonction d'onde, introduits en (A.26)
M	Masse moléculaire
M_i	Masse moléculaire du composé i
M_n	Masse moyenne en nombre
M_w	Masse moyenne en poids statistique
	Moyenne généralisée des masses moléculaires (A.24)
Mx	Grandissement vertical de l'interféromètre (A.1.2.)
$n(x)$	Indice de réfraction
n_A	Indice de réfraction du solvant
n_B	Indice de réfraction du soluté
n_r	Indice de réfraction de la solution, contenue dans le canal de référence (Figure 1A)
$0(...)$	Terme infiniment petit
r	$(= x_2/x_1)$. terme introduit en A.2.3.1.1.2.
s	Variable de la transformée de Laplace (A.49)
$S^\circ_{20,w}$	Coefficient de sedimentation, ramené à 20°C, par rapport à l'eau (C.2.7.2)
t	Temps théorique (A.1.4)
t'	Temps lu (A.1.4.)
T	Température en degrés Celsius

u_n	Variable, introduite en A.2.3.1.1.2.
$\bar{v}$	Volume spécifique partiel (C.2.7.2.)
w_i	Proportion d'un composé i dans un mélange (A.1.3.)
x	Coordonnée verticale théorique
X	Coordonnée verticale expérimentale
x_m	Valeur de l'abscisse au point d'inflexion de la fonction d'onde j(x) . (A.30)
X_p	Valeur arbitraire de l'abscisse du plateau soluté (A.35)
x_i, x_j	$(= D_A/d_i)$, introduit en (A.82)
y	Déplacement théorique horizontal du faisceau lumineux (Figure 1A)
Y	Déplacement expérimental
Y_t^2	Grandeur expérimentalement accessible, équivalente à J_0^2
z	Déplacement réduit normalisé théorique (A.3). $(= x/\sqrt{4.t})$
ZY	Lentille cylindrique de l'interféromètre (Figure 4B)
σ	Indice muet
	Fonction mathématique GAMMA
δj	Valeur expérimentale entre deux valeurs de la fonction d'onde j(x) . (A.30)
$\delta(...)$	Distribution de DIRAC
Δc	$(= c_B - c_A)$. Différence des concentrations entre le soluté et le solvant. (A.6)
Δt	Décalage de l'origine des temps (A.1.4) ou erreur sur le temps
ε	Coefficient d'extinction moléculaire
ζ	$(= z/\sqrt{D_A})$. Variable sans dimension introduite en (A.38)
ζ_{Max}	Valeur de ζ pour laquelle $\Omega(\zeta)$ est maximale
η, τ, ξ, σ	Variables, introduites dans le calcul de convolution (A.2.2.2.1.)
λ	Longueur d'onde de la lumière
$\varphi(z)$	Fonction normée, introduite en (A.11)
σ_i	Ecart quadratique moyen de la fonction de GAUSS (A.2.3.1.3.)
$\Phi(\ )$	Intégrale de la fonction d'erreur (A.7)
$\Phi_c(z)$	Complément de l'intégrale de la fonction d'erreur (A.73)
$\omega(z)$	Fonction de déviation (A.1.7.1)
$\Omega(\zeta)$	Fonction de déviation moyenne (A.1.7.2.)
Ω_{Max}	Valeur maximale de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$.

INTRODUCTION

L'étude des mécanismes fondamentaux impliqués dans le fonctionnement des systèmes biologiques se réduit en définitive à la compréhension des interactions dynamiques et conformationnelles des molécules constitutives du système. Cependant le dénombrement, la détermination de la masse et de la forme des macromolécules en présence constituent une étape préalable à la description de ces interactions. L'approche de ce que l'on désigne par "l'état des macromolécules en solution" permet ainsi d'initier l'étude d'un problème biologique.

S'il faut alors choisir une technique physico-chimique capable d'atteindre ce dessein, elle doit perturber le moins possible la solution dont on veut entreprendre l'étude. En effet, bien que de nombreuses techniques aient été développées, il existe encore de nombreuses incertitudes sur des molécules isolées depuis longtemps [1] [2] [3]. La raison en est sans doute aussi bien la complexité des solutions biologiques que l'influence de la technique d'analyse sur l'état des macromolécules en solution. Les solutions biologiques sont le plus souvent constituées d'un nombre important de composés différents ou encore sont le siège de processus évolutifs, plus ou moins spontanés, intra ou intermoléculaires. La technique employée doit donc éviter d'augmenter la difficulté de l'étude en modifiant l'état des macromolécules en solution. Ainsi une distinction doit être faite entre les techniques où l'analyse implique nécessairement une perturbation nette de la solution (la pression hydrostatique et les forces de friction mises en jeu en ultracentrifugation analytique par exemple [4] [5] [6]) et celles où l'influence du procédé d'observation sur les molécules est limitée (passage d'un faisceau lumineux à travers la solution en diffusion de translation et en diffusion de la lumière par exemple). De plus la détermination de la forme et de la masse d'une macromolécule, objectif à atteindre après avoir dénombré les composés d'une solution, passe nécessairement par l'"analyse homogène", c'est à dire par la confrontation des

résultats issus de plusieurs méthodes [7] [8]. Ainsi la diffusion libre de translation des macromolécules en solution nous a semblé particulièrement adaptée à l'étude de l'état des macromolécules en solution : la perturbation dûe à l'analyse est minime ; cette méthode complète l'ultracentrifugation analyse couramment pratiquée ; enfin les études techniques et théoriques, effectuées en chimie organique principalement, permettaient d'envisager raisonnablement un développement fructueux dans le domaine des solutions biologiques.

La diffusion libre de translation, mesurée par l'interféromètre de Rayleigh, est une méthode connue depuis longtemps, passée de mode par suite des difficultés rencontrées à sa mise en oeuvre. C'est, au cours des années 1945-1950, que CALVET [9] [10] [11], SVENSSON [12] [13] [14] la remettent en usage pour étudier les premières protéines isolées à l'état pur. Cependant leurs recherches demeurent limitées car l'enregistrement manuel des clichés d'interférence et leur interprétation détaillée sont très laborieux. Vers 1955, CREETH [15] marque une nouvelle étape en faisant appel aux calculateurs électroniques pour traiter ce problème. Puis DAUNE [16] étudie à son tour la polydispersité des solutions organiques et SUNDELÖF [17] adapte ce procédé à l'étude des solutions aux faibles concentrations. Cependant ce n'est que récemment qu'une lecture semi-automatique des clichés est devenue possible grâce à l'existence de procédés courants et précis de numérisation [18] (Dépouillement des traces nucléaires, issues des chambres à bulle par exemple). C'est donc en tenant compte de ces diverses acquisitions que nous avons envisagé de pousser plus avant cette technique et de l'adapter à l'étude des macromolécules biologiques en solution.

La numérisation automatique des clichés permet, comme nous le verrons dans la partie théorique, non seulement la mesure du coefficient de diffusion moyen mais encore l'étude de la polydispersité. En effet le diagramme de diffusion, en rendant compte de la variation de l'indice de réfraction en fonction de l'espace, est représentatif de l'état des macromolécules en solution. Les développements effectués en chimie organique doivent cependant être adaptés aux solutions biologiques pour lesquelles les composés sont en général très différents quant à leur masse. La notion de polydispersité "discontinue" ou "discrète" est ainsi introduite par opposition à la polydispersité

"continue" des polymères organiques. Des procédés analytiques pour traiter ces cas sont alors à développer. Un choix parmi les différents types de cellule de diffusion, une mise au point de dispositifs techniques appropriés est fait dans le but d'augmenter la reproductibilité et la facilité d'exécution des manipulations. Après avoir exposé le principe et les limites du procédé de numérisation employé, les développements numériques présentés montrent combien l'usage de l'ordinateur facilite l'analyse des clichés de diffusion. Enfin les résultats expérimentaux sont présentés de manière à montrer comment l'analyse de plus en plus fine des informations amène à décrire l'état des macromolécules en solution.

A. ASPECT THEORIQUE .

A.1. - DIFFUSION AUX FAIBLES CONCENTRATIONS

Les protéines sont des produits dont la préparation et la purification sont en général laborieuses. Ceci nous a poussé à étudier la diffusion avec une quantité minimale de produit. Les concentrations utiles sont comprises entre 0.1 $mg.ml^{-1}$ et 1.5 $mg.ml^{-1}$ environ. Par suite de ce faible incrément de concentration entre le soluté et le solvant, l'absorption de la lumière ne gêne pas l'enregistrement photographique de la diffusion. De plus comme cela sera expliqué, ce choix permet de considérer le coefficient de diffusion D comme indépendant de la concentration c et d'avoir une relation linéaire entre l'indice de réfraction n et la concentration. Ceci n'était pas réalisé dans l'étude initiale [0], pour laquelle nous avions admis des concentrations plus élevées ($\simeq 3\ mg.ml^{-1}$).

Utilisant un certain nombre de notions élémentaires définies dans un précédent mémoire [0], l'étude de la diffusion aux faibles concentrations est développée. Le travail de L.O. SUNDELÖF [17] nous a largement guidés dans cette étape.

A.1.1. SOLUTION DE L'EQUATION DE FICK DANS LE CAS IDEAL

La diffusion libre de translation d'un soluté unique est caractérisée par l'équation de Fick [19], [20] :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} D \frac{\partial c}{\partial x} \qquad (A.1) \quad [0.p.29]$$

Si la concentration c est faible, le coefficient de diffusion peut être considéré comme indépendant de la concentration, soit :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \qquad (A.2)$$

La transformation de Boltzmann [21]

$$z = x/\sqrt{4t} \qquad (A.3)$$

permet de transformer (A.2) en une équation différentielle à une seule variable z . Pour les conditions initiales et les conditions

aux limites suivantes :

$$\begin{array}{lll} \text{temps } t = 0 & c = c_A & \text{pour } -\infty < x < 0 \\ & c = c_B & 0 < x < +\infty \\ \text{temps } t \neq 0 & c \longrightarrow c_A & \text{pour } x \longrightarrow -\infty \\ & c \longrightarrow c_B & x \longrightarrow +\infty \end{array} \qquad (A.4)$$

La solution de l'équation différentielle (A.2) est alors :

$$c(x,t) = \bar{c} + (\Delta c/2).\Phi(x/\sqrt{4Dt})$$
$$c'_x(x,t) = \partial c/\partial x = (c/2).\Phi'(x/\sqrt{4Dt}) \qquad (A.5)$$

où

$$\bar{c} = (c_B + c_A)/2 \qquad (A.6)$$

$$\Delta c = c_B - c_A$$

$$\Phi(u) = H(u) = (2/\sqrt{\pi}) \int_0^u e^{-u^2}\, du \qquad (A.7)$$

$$\Phi'(u) = d\Phi/du = (2/\sqrt{\pi})\, e^{-u^2} \qquad (A.8)$$

Ce cas, pour lequel les relations (A.2) et (A.4) régissent la diffusion, est dit "cas idéal".

A.1.2. INTERFERENCES DE RAYLEIGH

Sans expliquer à nouveau le principe des interférences de Rayleigh ([0] p.11) (Figure 1A), il faut rappeler qu'à chaque temps expérimental t' une courbe Y(X) est obtenue (Figure 2A). En tenant compte de l'interfrange Ky et du grandissement Mx de l'appareil suivant l'axe vertical, il vient une courbe expérimentale j(X)

$$j(X) = a(n(X) - n_r)/\lambda \qquad (A.9)$$

où
- a est l'épaisseur de la cellule
- n_r est l'indice de réfraction du canal de référence
- X est l'abscisse expérimentale
- x est l'abscisse théorique (x = Mx.X)

Principe de l'interféromètre de Rayleigh

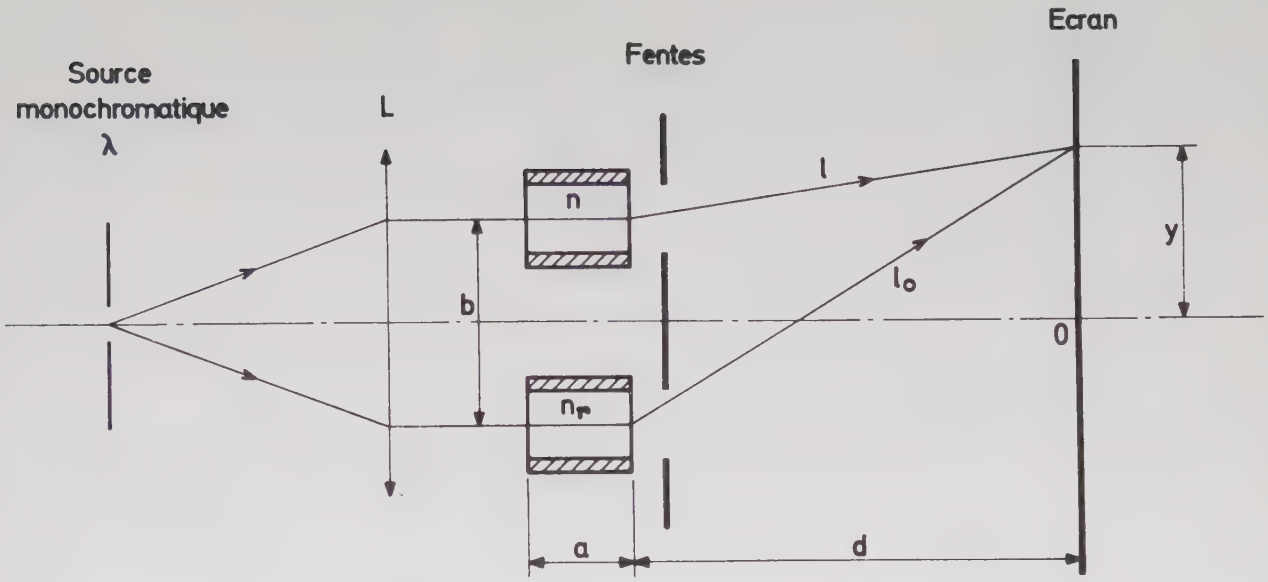


Figure 1A : Vue horizontale.Les éléments principaux du dispositif représenté sont les suivants:

- Lentille collimatrice L.
- Cellule avec deux canaux de longueur a: un canal de diffusion d'indice n et un canal de référence d'indice n_r.
- Deux fentes égales, distantes d'une longueur b.
- Un écran situé à une distance d de la cellule.
- l, l_o chemins optiques depuis la sortie d'un canal jusqu'à l'écran.
- y déviation horizontale de la lumière

Diagramme d'interférence de Rayleigh

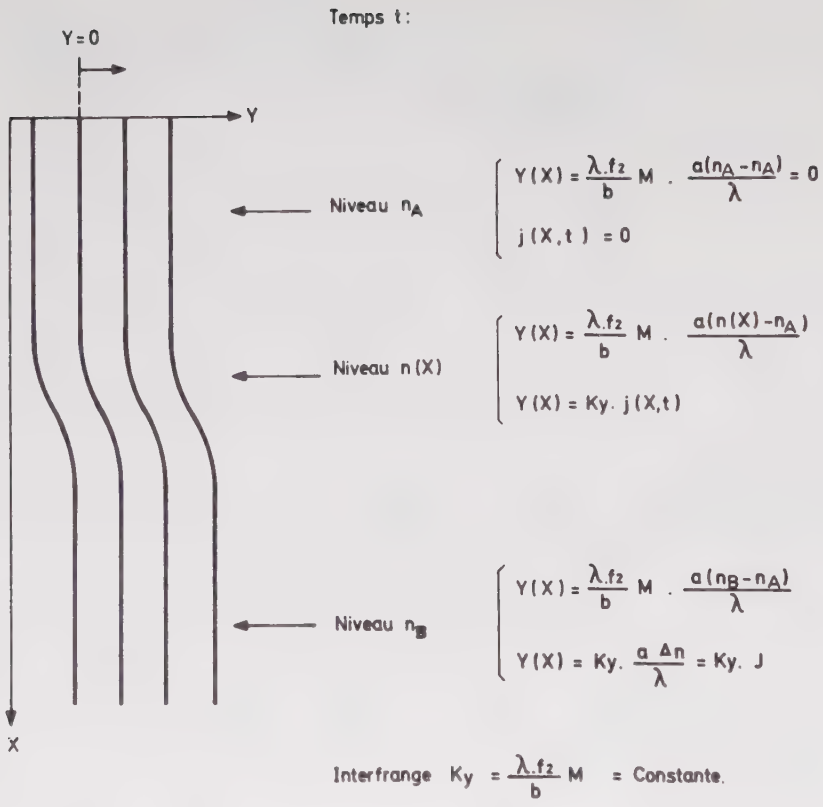


Figure 2A: Cette figure schématise un cliché de diffusion obtenu par interférence de Rayleigh à un temps donné.La valeur de l'interfrange Ky tient compte du dispositif d'agrandissement, f_2 est la distance focale d'une lentille placée derrière la cellule de diffusion. M est le grandissement vertical de l'interféromètre. Les autres symboles sont définis dans le texte.

Le nombre différentiel maximal de longueur d'onde, désigné par J, correspondant à la différence d'indices entre le solvant et le soluté, est donc :

$$J = a(n_B - n_A)/\lambda \qquad (A.10)$$

Il est habituel de définir un certain nombre de fonctions normées

$$f(j) \equiv \varphi(z) \equiv \left(\frac{j(x)}{J/2} - 1\right) \qquad (A.11)$$

$$g(c) \equiv \frac{c(x,t) - \bar{c}}{\Delta c/2} \qquad (A.12)$$

Il est facile de montrer, en tenant compte de la correspondance linéaire entre l'indice de réfraction et la concentration aux faibles concentrations que :

$$f(j) = g(c)$$

Dans le cas idéal, il vient en outre :

$$\varphi(z) = g(c) = \Phi(z) \qquad (A.13)$$

A.1.3. DIFFUSION A PLUSIEURS COMPOSES

Pour un système à plusieurs composés, les hypothèses suivantes peuvent être faites :

- Les produits n'interagissent pas : $D_{ik} = 0$ si $i \neq k$ [22]
- Les coefficients de diffusion ne dépendent pas de la concentration si la concentration de chaque composé est faible.

La diffusion, pour chaque composant i, est alors exprimée par:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \qquad (i = 1, 2, \ldots, N) \qquad (A.14)$$

Pour chaque soluté, il existe une solution $c_i(x)$ de la forme (A.5), la concentration totale est la somme des concentrations partielles :

$$c(x) = \sum_i c_i(x) \qquad (A.15)$$

$$c'_x(x) = \sum_i (c'_x(x))_i \qquad (A.16)$$

A chaque masse moléculaire M_i correspond un coefficient de diffusion D_i . Soit w_i la fraction en poids statistique de l'échantillon ayant la masse moléculaire M_i . A partir des relations (A.12), (A.13) et (A.15), il vient :

$$\varphi(z) = \sum_i w_i \cdot \Phi\,(z/\sqrt{D_i}) \qquad (A.17)$$

Pour un milieu polydisperse, on définit une fonction normalisée de distribution $F(M)$ et la fonction de fréquence correspondante $f(M)$. Il y correspond une fonction de distribution $H(D)$ des coefficients de diffusion telle que :

$$dF(M) = f(M)dM = f(M)\,\frac{dM}{dD}\,dD = -\,h(D)dD \qquad (A.18)$$

$$h(D) = -\,f(M).\,\frac{dM}{dD} \qquad (A.19)$$

Le signe négatif exprime que la masse M et le coefficient de diffusion D correspondant varient en sens inverse. Les fonctions $F(M)$ et $H(D)$ satisfont aux relations suivantes :

$$F(M) = \int_0^M f(\alpha)d\alpha \qquad F(0) = 0 \qquad F(\infty) = 1 \qquad (A.20)$$

$$H(D) = \int_0^D h(\alpha)d\alpha \qquad H(0) = 0 \qquad H(\infty) = 1 \qquad (A.21)$$

Pour une polydispersité continue, la relation (A.17) s'écrit :

$$\varphi(z) = \int_0^\infty \Phi\,(z/\sqrt{D})\cdot dH(D) \qquad (A.22)$$

Pour une polydispersité "discrète", la relation (A.17) s'écrit :

$$\varphi(z) = \sum_i w_i \cdot \int_0^\infty \Phi\,(z/\sqrt{D})\cdot\delta(D-D_i)\cdot dD \qquad (A.23)$$

$$(\delta(D-D_i) = 0 \quad \text{si} \quad D \neq D_i)$$

Il est alors possible de définir les valeurs moyennes des paramètres M et D par :

$$\mathcal{M}_1^1 = \langle M^1 \rangle = \int_0^\infty M^1 \, dF(M) \qquad (A.24)$$

$$\mathcal{D}_1^1 = \langle D^1 \rangle = \int_0^\infty D^1 \, dH(D) \qquad (A.25)$$

A partir des valeurs expérimentales $c(x,t)$ et $c'_x(x,t)$, les valeurs moyennes des coefficients de diffusion peuvent être calculées [23] [24] [25] [17]. Les moments de la fonction c'_x sont donnés par :

$$m_k = \frac{1}{\Delta c} \int_{-\infty}^{+\infty} x^k \, c'_x(x,t) dx \qquad (A.26)$$

Si la diffusion est idéale : $m_k = 0$ pour k impair, car la fonction c'_x est symétrique en x. Il vient :

$$m_{2\sigma} = 2^\sigma (2\sigma - 1)!! \; t^\sigma \mathcal{D}_\sigma^\sigma$$

Dans le cas général, si on désigne par x_m la valeur de l'abscisse pour laquelle la courbe $j(x)$ a un point d'inflexion, il vient :

$$c_x^{(2\sigma+1)}(x_m,t) = \frac{(-1)^\sigma \, (2\sigma)!}{2^{2\sigma+1} \, \sigma!} \Delta c. \; t^{-\sigma-1/2} \mathcal{D}_{-\sigma-1/2}^{-\sigma-1/2} \qquad (A.27)$$

A.1.4. CALCUL DE D_A

La valeur moyenne $\mathcal{D}_{-1/2}$ ($l = -0.5$ dans (A.25)) est fréquemment désignée par D_A ([0] p.39). Définissons une nouvelle grandeur expérimentalement accessible Jo^2 par :

$$Jo^2 = [J \; / \; j'_x(x_m,t') \;]^2 \qquad (A.28)$$

où $j'_x(x_m,t')$ est la valeur de la dérivée de $j(x)$ au point d'inflexion x_m. Il est alors facile de démontrer (A.11, A.13, A.27) que :

$$Jo^2 = 4\pi D_A \, t = 4\pi D_A (t' + \Delta t) \qquad (A.29)$$

où t' est le temps lu
t est le temps vrai ([0] p.35)

Δt appelé " erreur sur le temps ", représente le décalage de l'origine des temps, conséquence de la réalisation physique de la frontière.

La grandeur Jo^2 est analogue à la valeur Y_t^2, définie dans le traitement des interférences de Rayleigh aux fortes concentrations. [0]

A.1.4.1. Détermination de $j'_x(x_m,t)$

SVENSSON [26] a proposé un procédé pour déterminer $j'_x(x_m,t)$ à partir des valeurs expérimentales $j(x)$. Il s'agit de développer $j(x)$ en série de Taylor au voisinage de x_m pour un temps t. Soit :

$$\delta j = j(x_m + \delta x/2) - j(x_m - \delta x/2) \qquad (A.30)$$

Si δx est la différence des abscisses expérimentales pour laquelle $j(x)$ est connu et, comme j'_x est différent de zéro, il vient :

$$j'_x(x_m,t) = \left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m} \cdot \left[1 + \sum_{\sigma=1}^{\infty} \frac{2^{-2\sigma}}{(2\sigma+1)!} \cdot \frac{j_x^{(2\sigma+1)}(x_m,t)}{j'_x(x_m,t)} \cdot \delta x^{2\sigma} \right]^{-1} \qquad (A.31)$$

En combinant cette dernière expression avec la relation (A.27) :

$$j'_x(x_m,t) = \left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m} \left[1 + \sum_{\gamma=1}^{\infty} (-1)^{\gamma} \cdot K_{2\sigma} \cdot \delta x^{2\sigma} \right]^{-1} \qquad (A.32)$$

où $$K_{2\sigma} = \frac{t^{-\sigma}}{2^{4\sigma} \cdot (2\sigma+1) \cdot \sigma !} \sqrt{\frac{D_A}{D_{-\sigma-1/2}^{2\sigma+1}}} \qquad (A.33)$$

$\left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m}$ peut être obtenu directement à partir des valeurs expérimentales $j(X)$. (Section C). Le facteur entre crochets en (A.32) tend vers l'unité lorsque δx tend vers zéro. Il sera donc possible d'obtenir $j'_x(x_m,t)$.

La courbe $j(X)$, pour des valeurs équidistantes des abscisses, donne :

$$\delta j = j(x+\delta x,t) - j(x,t)$$

Si t est petit, le terme correctif $K_{2\sigma}$ peut être significatif. Cependant il suffit de remarquer, en développant (A.32), que

$$\left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m} = j'_x(x_m,t) \cdot \left(\frac{1+A\ \delta x^2 + 0(\delta x^4)}{1+B\ \delta x^2 + 0(\delta x^4)}\right) \quad (A.34)$$

où A et B sont des constantes et $0(\delta x^4)$ dénote un infiniment petit.

Ainsi, après avoir calculé $\left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m}$ pour les multiples successifs de (δx^2), il suffira de chercher les valeurs des termes $j'_x(x_m,t)$, A et B qui recouvrent au mieux les valeurs expérimentales $\left(\frac{\delta j}{\delta x}\right)_{x=x_m}$ en fonction de δx^2 (voir Section C.1.).

A.1.4.2. Détermination de D_A et de Δt

Connaissant la valeur expérimentale $j'_x(x_m,t')$ pour chaque temps t' ainsi que le nombre différentiel maximal de longueur d'onde J, il est possible d'obtenir les valeurs Jo^2 en fonction du temps expérimental t'. L'équation (A.29) permet alors de calculer le coefficient de diffusion D_A et l'erreur sur le temps. Il est à signaler que D_A est souvent appelé le coefficient de diffusion "hauteur-surface" par analogie avec le coefficient de diffusion obtenu par le dispositif optique Schlieren.

A.1.5. DETERMINATION DE LA REFERENCE

Si les conditions (A.4) sont satisfaites, il est facile de montrer que le premier moment m_1 (A.26) ne varie pas en fonction du temps [17]. En substituant X, abscisse expérimentale, à x, il vient :

$$m_1 = \frac{1}{J}\cdot\int_{-\infty}^{+\infty} X\ j'_x dx \cong \left[\frac{j(X).X}{J}\right]_{-\infty}^{X_P} - \frac{1}{J}\int_{-\infty}^{X_p} j dX \quad (A.35)$$

où X_p est une valeur de l'abscisse dans la région du plateau soluté (Figure 2A). m_1 a les dimensions d'une abscisse et peut être utilisé comme référence ($x = X - m_1$). L'étude de m_1 en fonction du temps permet d'observer s'il y a des déplacements de frontière dans la cellule ou des courants de convection ou des changements dans l'optique au cours d'une expérience.

Sans anticiper sur l'aspect numérique de ce travail, nous signalerons qu'il est parfois avantageux pour des questions de reproductibilité de considérer le point d'abscisse x_m (point d'inflexion), comme point de référence des abscisses.

A.1.6. DIAGRAMME INDEPENDANT DU TEMPS

La transformation de Boltzmann (A.3) permet en fait de compenser l'influence du temps sur la forme de la fonction $j(x,t)$. Aussi si on transforme par la relation (A.3) les valeurs (x) , toutes les courbes $j(x,t)$, représentées en $j(z)$, coïncident. De plus en utilisant les relations de normalisation (A.11), (A.13), un diagramme $\varphi(z)$ indépendant du temps est obtenu (voir Section C, Figure 8_3C). Cette représentation permet de déceler l'occurrence d'un incident au cours du processus de diffusion. Cependant comme nous le verrons plus loin, cette représentation n'est pas très sensible aux fluctuations et il faut lui préférer les fonctions de déviation.

A.1.7. FONCTIONS DE DEVIATION

Ces diverses fonctions ont pour but de définir l'écart à l'idéalité des courbes expérimentales de diffusion. Elles ont été introduites par de nombreux auteurs [27], [15].

A.1.7.1. Fonction de déviation $\omega(z)$

Etant donné que x et partant z sont définis explicitement, la fonction de déviation est définie par :

$$\omega(z) \equiv \Phi\,(z/\sqrt{D_A}) - \varphi(z) \qquad (A.36)$$

$\omega(z)$ représente l'écart entre la valeur qu'aurait le diagramme de diffusion si le processus était idéal avec un soluté unique ayant

pour coefficient de diffusion D_A et la courbe expérimentale $\varphi(z)$. L'on observe expérimentalement que $\omega(z)$ n'est pas particulièrement symétrique par rapport à $z = 0$ (Figure 8_3C , Section C). SUNDELÖF [17] donne trois raisons à cela :

1) La frontière formée satisfait plus ou moins bien aux conditions initiales et aux conditions limites posées (A.4)
2) La référence n'est pas toujours déterminée avec la précision souhaitable (A.1.5)
3) Les coefficients de diffusion et l'indice de réfraction peuvent dépendre de la concentration.

A.1.7.2. Fonction de déviation moyenne $\Omega(\varsigma)$

Pour atténuer l'asymétrie constatée de $\omega(z)$, il est préférable théoriquement et expérimentalement de définir une fonction de déviation moyenne $\Omega(\varsigma)$ par :

$$\Omega(\varsigma) \equiv \frac{1}{2}[\omega(z) - \omega(-z)] \qquad (A.37)$$

où

$$\varsigma \equiv z/\sqrt{D_A} \qquad (A.38)$$

La variable ς est une variable sans dimension. La fonction $\Omega(\varsigma)$ est la fonction expérimentalement accessible à partir de laquelle la polydispersité est étudiée.

A.1.8. EFFET DE LA CONCENTRATION. IMPERFECTIONS DE LA FRONTIERE

Dans ce travail nous nous bornerons à rappeler les conclusions établies par L.O. SUNDELÖF [17] sur l'influence de la concentration et celle des imperfections de la frontière.

A.1.8.1. Effet de la concentration

Le coefficient de diffusion D et l'indice de réfraction n peuvent dépendre de la concentration ([0] p.32]. Si la concentration est élevée, ceci aura une influence sur la forme de $\Omega(\varsigma)$ et pourra masquer l'effet de la polydispersité. SUNDELÖF a montré que, pour

des concentrations inférieures à environ 2 mg.ml^{-1}, la contribution de la concentration aux valeurs de $\Omega(\varphi)$ est de l'ordre de 10^{-4}. Or comme nous le verrons, la précision expérimentale de $\Omega(\varphi)$ est de l'ordre de 20 à 50.10^{-4}.

A.1.8.2. Effet des imperfections dans la frontière

Il est clair que les conditions, définies en (A.4), sont plus ou moins bien satisfaites par la frontière réalisée. BRYNGDAHL [28] a étudié la solution de l'équation (A.2) en utilisant des conditions initiales voisines des conditions expérimentalement accessibles, c'est à dire une frontière dont l'épaisseur au temps zéro est non nulle. Il faut en retenir les conclusions suivantes :

. Plus l'erreur sur le temps (Δt) est grande, plus l'effet sur la fonction de déviation $\Omega(\varphi)$ sera ressenti tardivement (Section C, Figure 16C)

. Il suffit d'étudier la polydispersité pour des temps relativement longs (15 000 < t' < 50 000 secondes) pour éliminer cet inconvénient. En effet le phénomène de diffusion en se développant élimine de lui-même les anomalies issues de l'imperfection de la frontière initiale.

A.2. - POLYDISPERSITE

A.2.1. ASPECTS GENERAUX DE LA POLYDISPERSITE

A.2.1.1. Valeurs moyennes des paramètres moléculaires

Les fonctions de distribution F(M) et H(M) ont permis de définir les valeurs moyennes des paramètres moléculaires :

$$\mathcal{M}_1^1 = \langle M^1 \rangle = \int_0^\infty M^1 \, dF(M) \qquad (A.24)$$

$$\mathcal{D}_1^1 = \langle D^1 \rangle = \int_0^\infty D^1 \, dH(D) \qquad (A.25)$$

La masse moléculaire moyenne en nombre $M_n = \mathcal{M}_{-1}$ $(l = 1)$
La masse moléculaire moyenne en poids $M_w = \mathcal{M}_1$ $(l = 1)$

Comme nous le verrons, le rapport M_w/Mn décrit la polydispersité d'un système.

Le coefficient de diffusion D est lié au coefficient de friction f [29] par :

$$D = k.T/f$$

où k est la constante de Boltzmann
T est la température absolue

Le coefficient de friction peut être exprimé en fonction des caractéristiques hydrodynamiques de la molécule considérée, par exemple [30], (masse, forme, volume spécifique partiel ...). L'étude des polymères organiques a permis d'établir [17] que le coefficient de diffusion en première approximation est relié à la masse moléculaire par la relation suivante :

$$D = b_1.M^{-b2} \qquad (A.39)$$

où b_1 et b_2 sont des constantes positives. Leur valeur dépend des caractéristiques de la molécule considérée et de son environnement.

Ainsi, pour les polymères organiques, b_2 prend les valeurs suivantes :

sphères rigides $b_2 \cong 0.33$
pelotes statistiques $0.5 < b_2 < 0.66$
bâtonnets rigides $b_2 \cong 1$

Dans le cas des protéines, la situation est plus complexe, en particulier à cause de la quantité des charges électrostatiques en présence. Dans l'expression des constantes b_1 et b_2, il faut tenir compte de la solvatation en plus des caractéristiques hydrodynamiques [30]. Les relations obtenues restent empiriques. Cependant une étude systématique des valeurs des coefficients de diffusion obtenues par divers auteurs [31] montre qu'il est légitime d'utiliser la relation (A.39) pour relier en première approximation le coefficient de diffusion et la masse moléculaire (Figure 3A). Les protéines

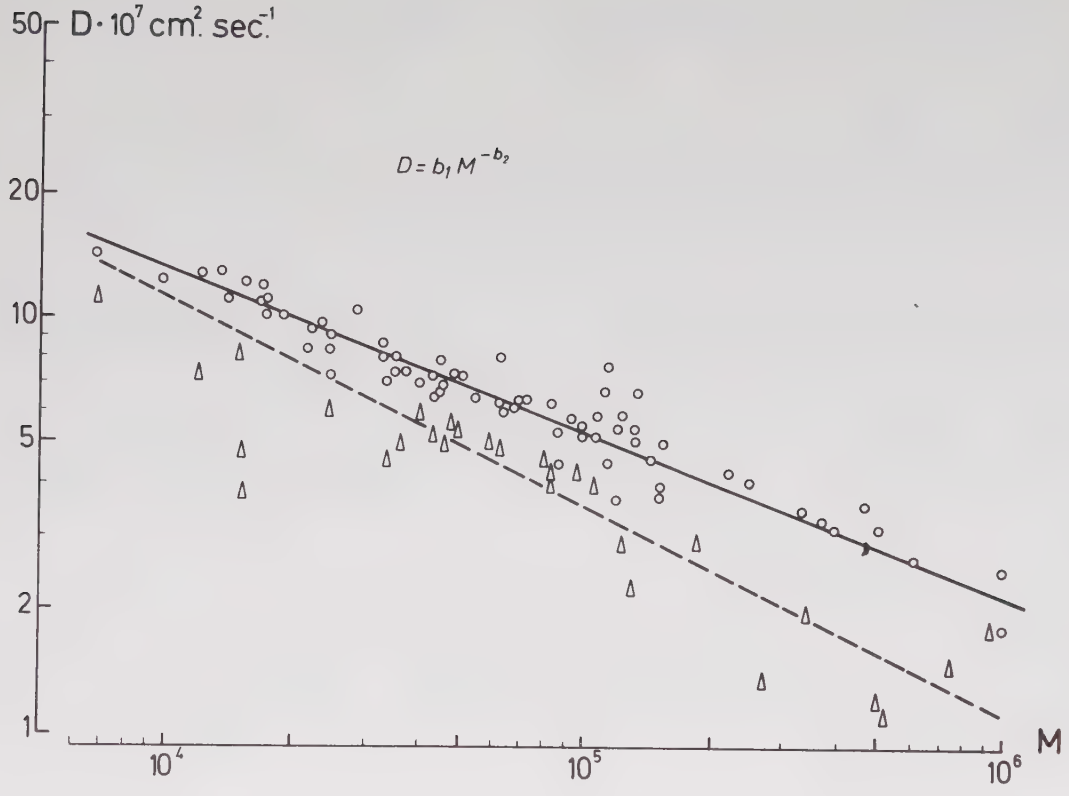


Figure 3A: Représentation du coefficient de diffusion de translation en fonction de la masse moléculaire de protéines globulaires (o) et fibrillaires (Δ), à partir de valeurs publiées dans la littérature .[31]

sont classées en deux groupes par comparaison de leur coefficient de friction propre f à celui f_0 d'une sphère, équivalente en masse, soit :

protéines globulaires	$f/f_0 \cong 1$	$b_2 \cong 0.45$
protéines fibrillaires	$f/f_0 > 1$	$b_2 \cong 0.50$

Pour simplifier les calculs où l'utilisation de la relation (A.39) est nécessaire, les valeurs suivantes ont été choisies :

$b_1 = 10^{-4}\ cm^2\ s^{-1}$

$b_2 = 0.5$

Ceci permet de raisonner sur les masses moléculaires qui sont des observables plus suggestives que les coefficients de diffusion. Malgré ce qui vient d'être écrit, il faut souligner qu'il s'agit d'une simplification et que cela ne traduit que partiellement la relation entre la masse et le coefficient de diffusion.

A.2.1.2. Calcul de $\Omega(\zeta)$ à partir de f(M) et de h(D)

Les relations (A.36), (A.37) permettent d'écrire que la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ est donnée dans le cas général par :

$$\Omega(\zeta) = \Phi(\zeta) - \Psi(z) \qquad (A.40)$$

où $\zeta = z/\sqrt{D_A}$ (A.38)

$z = x/\sqrt{4.t}$ (A.3)

Pour une distribution donnée, il vient (A.22) :

$$\Omega(\zeta) = \Phi(\zeta) - \int_0^\infty \Phi\left(\frac{Z}{\sqrt{D}}\right) dH(D)$$

ou, en utilisant la relation (A.19) entre F(M) et H(D) :

$$\Omega(\zeta) = \Phi(\zeta) + \int_0^\infty \Phi\left(\frac{Z}{\sqrt{D}}\right) f(D(M)).\ \frac{dM}{dD}\ .\ dD$$

La relation (A.39) entre la masse moléculaire et le coefficient de diffusion entraine :

$$\Omega(\zeta) = \Phi(\zeta) - \frac{1}{b_1 b_2} \cdot \int_0^{\infty} \left(\frac{D}{b_1}\right)^{-\frac{1+b_2}{b_2}} \cdot f\left(\left(\frac{D}{b_1}\right)^{-\frac{1}{b_2}}\right) \cdot \Phi\left(\frac{\zeta}{\sqrt{D'}}\right) \quad dD$$

(A.41)

ce qui permet pour une fonction de fréquence explicite de calculer la fonction de déviation $\Omega(\zeta)$. De plus il est intéressant de connaître la dérivée de cette fonction. Elle est donnée par :

$$\frac{d\Omega(\zeta)}{d\zeta} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left[e^{-\zeta^2} - \frac{1}{b_1 b_2} \cdot \int_0^{\infty} \left(\frac{D}{b_1}\right)^{-\frac{1+b_2}{b_2}} \cdot f\left(\left(\frac{D}{b_1}\right)^{-\frac{1}{b_2}}\right) \cdot \frac{e^{-\frac{\zeta^2}{D}}}{\sqrt{D}} \quad dD \right]$$

(A.42)

A.2.1.3. Valeurs moyennes D_1 et D_2 . [14] [17]

Des expressions (A.12, A.13, A.3, A.38), il est possible d'écrire que :

$$2 \cdot c'_x / \Delta c = \varphi'_\zeta \cdot (\partial\zeta / \partial x)$$

En introduisant cette valeur dans l'expression des moments m_k (A.26), il vient :

$$m_k = \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{+\infty} x^k \cdot \varphi'_\zeta \cdot \left(\frac{\partial\zeta}{\partial x}\right) \, dx$$

En tenant compte des relations (A.3, A.8) et de la symétrie de la fonction :

$$m_{2\sigma} = 2^{2\sigma-1} \cdot D_A^{\sigma} \cdot t^{\sigma} \int_{-\infty}^{+\infty} \zeta^{2\sigma} \cdot \varphi'_\zeta \, d\zeta$$

(A.43)

Si on désigne par I la dernière intégrale [17], la relation (A.36) permet d'écrire :

$$I \equiv \int_{-\infty}^{+\infty} \zeta^{2\sigma} \cdot \varphi'_\zeta \, d\zeta = \int_{-\infty}^{+\infty} \zeta^{2\sigma} \cdot \Phi' \cdot d\zeta - \int_{-\infty}^{+\infty} \zeta^{2\sigma} \cdot \omega' d\zeta = I_1 - I_2$$

Dans I_1, la quantité à intégrer est une fonction paire :

$$I_1 = 2\int_0^{+\infty} \varphi^{2\sigma}\,\varphi'_\varphi \, d\varphi = -2\int_0^{\infty} \varphi^{2\sigma}\,\frac{d}{d\varphi}\,[1-\Phi(\varphi)]\cdot d\varphi$$

$$= [-2\cdot\varphi^{2\sigma}(1-\Phi(\varphi))]_0^{\infty} + 4\sigma\int_0^{\infty}\varphi^{2\sigma-1}\,[1-\Phi(\varphi)]\,d\varphi$$

Le premier terme est nul et il vient [32] :

$$I_1 = 2^{1-\sigma}\,(1.\,3.\,5.\,\ldots\,(2\sigma-1))$$

$$I_1 = 2^{1-\sigma}.(2\sigma-1)!! \qquad (A.44)$$

Comme nous le verrons, la fonction $\omega(\varphi)$ est nulle lorsque $|\varphi| \to \infty$, l'intégration par parties donne :

$$I_2 = [\varphi^{2\sigma}\,\omega(\varphi)]_{-\infty}^{+\infty} - 2\sigma\int_{-\infty}^{+\infty}\varphi^{2\sigma-1}\omega(\varphi)d\varphi = -2\sigma\int_{-\infty}^{+\infty}\varphi^{2\sigma-1}\omega(\varphi)d\varphi \qquad (A.45)$$

Ce qui permet d'écrire :

$$m_{2\sigma} = 2^{\sigma}(2\sigma-1)!!\; D_A^{\sigma}\,t^{\sigma}\left[1 + \frac{\sigma.2^{\sigma}}{(2\sigma-1)!!}\int_{-\infty}^{+\infty}\varphi^{2\sigma-1}\omega(\varphi)d\varphi\right]$$

En remplaçant $\omega(\varphi)$ par $\Omega(\varphi)$ (A.37), l'intégrant est une fonction paire. La relation entre les coefficients de diffusion $\mathcal{D}_\sigma$ et les moments $m_{2\sigma}$ (A.26, A.27) permet alors d'écrire :

$$\mathcal{D}_\sigma/D_A = 1 + \frac{2^{\sigma+1}\,\sigma}{(2\sigma-1)!!}\int_0^{\infty}\varphi^{2\sigma-1}.\Omega(\varphi)d\varphi \qquad (A.46)$$

Cette dernière relation montre qu'il est possible à partir de $\Omega(\varphi)$ de calculer les valeurs moyennes successives des coefficients de diffusion.

A.2.1.4. Formalisme général

Avant d'expliciter la fonction de fréquence f(M), nous voulons formuler le problème de manière à faciliter le développement mathématique ultérieur. Nous remercions ici Guy Paillotin pour l'aide qu'il nous a fournie dans l'étude théorique.

Comme nous l'avons déjà écrit, la valeur moyenne d'une observable B(D) est définie par :

$$\langle B \rangle = \int_0^\infty B(D).\ h(D)\ .\ dD \qquad (A.47)$$

où h(D) est la fonction de fréquence. La relation (A.22) s'écrit alors :

$$\varphi(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \langle \Phi(z/\sqrt{D}) \rangle = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left\langle \int_0^{z/\sqrt{D}} e^{-u^2} du \right\rangle$$

La relation (A.25) devient :

$$\frac{1}{\sqrt{D_{1/2}}} = \frac{1}{\sqrt{D_A}} = \left\langle \frac{1}{\sqrt{D}} \right\rangle$$

La transformation $\zeta = z/\sqrt{D_A}$ (A.38) , introduite dans (A.40), donne alors pour la fonction de déviation moyenne :

$$\Omega(\zeta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left\langle \int_0^{\zeta} e^{-u^2} du - \int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2} du \right\rangle \qquad (A.48)$$

Calculons la transformée de Laplace de $\Omega(\zeta)$ soit :

$$\Omega(s) = \int_0^\infty e^{-s\zeta} \Omega(\zeta)\, d\zeta \qquad (A.49)$$

Posons :

$$G(s) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-s\zeta} \cdot e^{-\zeta^2} d\zeta \qquad (A.50)$$

L'intégration par parties de cette dernière expression donne :

$$\frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-s\zeta} \left(\int_0^{\zeta} e^{-u^2} du \right) d\zeta = \frac{1}{s}\ G(s)$$

$$\frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-s\zeta} \left(\int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2} du \right) d\zeta = \frac{1}{s}\ G\left(s\sqrt{\frac{D}{D_A}}\right)$$

$$\text{D'où} : \Omega(s) = \frac{1}{s} \left\langle G(s) - G\left(s.\sqrt{\frac{D}{D_A}}\right) \right\rangle \qquad (A.51)$$

$$\text{or} : G(s) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-s\zeta} e^{-\zeta^2} d\zeta = \frac{1}{\sqrt{\pi}} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n!} . s^n . \Gamma\left(\frac{n+1}{2}\right)$$

$$\text{donc} : \Omega(s) = \left\langle \frac{1}{\sqrt{\pi}} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{(-1)^m}{(m+1)!} . s^m \left[\left(\frac{D}{D_A}\right)^{\frac{m+1}{2}} - 1 \right] . \Gamma\left(\frac{m+1}{2}\right) \right\rangle \qquad (A.52)$$

Cette dernière expression permet d'étudier la fonction $\Omega(s)$, elle est en fait équivalente à l'expression (A.46). Il faut remarquer que la relation (A.52) permet d'étudier $\Omega(s)$, transformée de Laplace de $\Omega(\zeta)$, en fonction des valeurs moyennes des coefficients de diffusion.

A.2.2. POLYDISPERSITE CONTINUE

Cette notion décrit le cas où les masses moléculaires étudiées sont suffisamment voisines pour considérer la fonction de fréquence $f(M)$ continue. La connaissance des distributions des masses moléculaires pour les polymères organiques monotones permet de postuler la forme de la fonction de fréquence [16] :

$$f(M) = a_1 M^{a_2} e^{-M/a_3} \qquad (A.53)$$

Les constantes a_1, a_2 et a_3 sont positives. D'autres types de fonction de fréquence peuvent être proposés [16] mais leur allure générale est du type décrit par (A.53). Pour simplifier, nous ne considérons qu'un seul type de distribution mais le raisonnement s'appliquerait à d'autre type de distribution.

A.2.2.1. Solution numérique. Calcul de $\Omega(\zeta)$.

Etant donné que $f(M)$ est normée, il n'existe que deux constantes indépendantes dans la relation (A.47). Il vient :

$$a_1 = 1/(a_3^{a_2+1} . \Gamma(1+a_2)) \qquad (A.54)$$

Comme nous l'avons vu en A.2.1.2., $\Omega(\zeta)$ et $d\Omega(\zeta)/d\zeta$ sont aisément calculables ((A.41), (A.42)) en tenant compte de la forme explicite de la distribution (A.53).

A.2.2.1.1. Etude mathématique de $\Omega(\zeta)$

Dans le cas de polydispersité continue le rapport $\sqrt{\frac{D_A}{D}}$ est voisin de l'unité, ce qui, en notant que :

$$\int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2} du = \int_0^{\zeta+\zeta\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right)} e^{-u^2} du$$

permet d'écrire le développement suivant :

$$\int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2} du = \int_0^{\zeta} e^{-u^2} du + \zeta\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right) e^{-\zeta^2} + \ldots +$$

$$+ \frac{1}{n!}\zeta^n\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right)^n \frac{d^{(n-1)}e^{-\zeta^2}}{d\zeta^{n-1}}$$

or : $\frac{d^n e^{-\zeta^2}}{d\zeta^n} = (-1)^n e^{-\zeta^2} H_n(\zeta)$

$H_n(\zeta)$ = polynome d'Hermite de degré n

$$\int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2} du = \int_0^{\zeta} e^{-u^2} du + \zeta\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right)e^{-\zeta^2}H_0(\zeta) - \frac{\zeta^2}{2!}\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right)^2 e^{-\zeta^2}H_1(\zeta) +$$

$$+ \frac{\zeta^3}{3!}\left(\sqrt{\frac{D_A}{D}}-1\right)^3 e^{-\zeta^2}H_2(\zeta) + \ldots$$

$H_0(\zeta) = 1$; $H_1(\zeta) = 2\zeta$; $H_2(\zeta) = 4\zeta^2 - 2$

Posons : $h = \left(\sqrt{\frac{D_A}{D}} - 1\right)$

$$\left\langle \int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2}\,du \right\rangle = \int_0^{\zeta} e^{-u^2}\,du + \zeta\, e^{-\zeta^2}\langle h\rangle - \zeta^2 e^{-\zeta^2}\langle h^2\rangle + \frac{\zeta^3}{3!}\, e^{-\zeta^2}(4\zeta^2-2)\langle h^3\rangle + \ldots$$

$$\text{Or : } \Omega(\zeta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}}\left\langle \int_0^{\zeta} e^{-u^2}\,du - \int_0^{\zeta\sqrt{\frac{D_A}{D}}} e^{-u^2}\,du \right\rangle \qquad \text{(A.48)}$$

Si on remarque que $\langle h\rangle = 0$ et si on se limite au troisième ordre :

$$\Omega(\zeta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}}\,\zeta^3\, e^{-\zeta^2}\langle h^2\rangle \left(1 - \frac{1}{3}(2\zeta^2-1)\,\frac{\langle h^3\rangle}{\langle h^2\rangle}\right) \qquad \text{(A.53)}$$

$$\frac{d\Omega(\zeta)}{d\zeta} = \frac{2}{\sqrt{\pi}}\,\zeta^2\, e^{-\zeta^3}\left(\frac{4}{3}\langle h^2\rangle\zeta^4 - 2(\langle h^2\rangle + 2\langle h^3\rangle\zeta^2 + 3\langle h^2\rangle\langle h^3\rangle)\right) \qquad \text{(A.54)}$$

Cette dérivée est nulle pour :

$\zeta = 0$

$\zeta \to +\infty$

$$\zeta^2_{max} = \frac{3}{2} + \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle} \pm \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle}\left[1 + \frac{8}{3}\left(\frac{\langle h^3\rangle}{\langle h^2\rangle}\right)^2\right]^{1/2} \qquad \text{(A.55)}$$

Si la solution étudiée est monodisperse, les valeurs moyennes $\langle h^2\rangle$, $\langle h^3\rangle$ ... sont nulles, ce qui entraine :

$$\zeta_{max} = \sqrt{\frac{3}{2}} = 1.22 \qquad \text{et } \Omega(\zeta_{max}) = 0$$

Si la solution est polydisperse ($(\langle h^3\rangle / \langle h^2\rangle) \leqq 0$), en effectuant un développement limité par le dernier terme de (A.55), il vient :

$$\zeta^2_{max} = \frac{3}{2} + \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle} \pm \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle}\left(1 + \frac{4}{3}\frac{\langle h^3\rangle^2}{\langle h^2\rangle^2} + \ldots\right)$$

$$= \frac{3}{2} + \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle} \pm \frac{3}{4}\frac{\langle h^2\rangle}{\langle h^3\rangle} \pm \frac{\langle h^3\rangle}{\langle h^2\rangle} \pm \ldots$$

Le signe $\pm$ a été introduit artificiellement en limitant le développement effectué pour obtenir $\Omega(\zeta)$: il faut se limiter au signe négatif soit :

$$\varphi^2_{2\,max} = \frac{3}{2} - \frac{\langle h^3 \rangle}{\langle h^2 \rangle} \qquad (A.56)$$

soit, en développant :

$$\varphi_{max} = 1.22 \left(1 - \frac{1}{3} \frac{\langle h^3 \rangle}{\langle h^2 \rangle} \right) \qquad (A.57)$$

Comme nous le verrons numériquement, φ_{max} est donc égal ou supérieur à 1.22 suivant la polydispersité de la solution étudiée.

A.2.2.1.2. Propriétés de la distribution

L'étude de la distribution choisie (A.53) et de la fonction de transfert (A.39) permet de calculer les moyennes $\langle h^2 \rangle$, $\langle h^3 \rangle$ et les diverses moyennes moléculaires. Nous avons pu établir les relations suivantes :

$$\mathcal{D}^1_1 = b_1{}^1 . a_3{}^{-1/2} \Gamma(a_2 - 1/2 + 1) / \Gamma(a_2 + 1)$$

$$D_A = b_1 . a_3{}^{-1/2} . (\Gamma(a_2+1))^2 / (\Gamma(a_2+5/4))^2 \qquad (A.58)$$

$$\langle h^2 \rangle = \left\langle \frac{D_A}{D} - 1 \right\rangle = \frac{\Gamma(a_2 + 3/2) . \Gamma(a_2 + 1)}{(\Gamma(a_2 + 5/4))^2} - 1 \qquad (A.59)$$

$$\langle h^3 \rangle = \frac{(\Gamma(a_2 + 1))^2 . \Gamma(a_2 + 7/4)}{(\Gamma(a_2 + 5/4))^3} - 3 \langle h^2 \rangle + 2 \qquad (A.60)$$

$$D_1 = \langle D \rangle = b_1 . a_3{}^{-1/2} (\Gamma(a_2+1/2) / \Gamma(a_2+1)) \qquad (A.61)$$

$$D_2 = b_1 / \sqrt{a_2 a_3} \qquad (A.62)$$

$$M_w / M_n = 1 + 1/a_2 \qquad (A.63)$$

$$M_n = a_2 a_3 \qquad (A.64)$$

$$D_1 / D_A = \frac{\Gamma(a_2+1/2) . (\Gamma(a_2+5/4))^2}{(\Gamma(a_2+1))^3} \qquad (A.65)$$

A.2.2.1.3. Solution numérique (Programme CHATS)

Le calcul a été effectué pour plusieurs distributions types en considérant $b_1 = 10^{-4}$ cm^2 et $b_2 = 0.5$. Les intégrations ont été effectuées par la méthode de SIMPSON [33] : la précision du calcul est 10^{-5} sur la valeur des intégrales. Toutes les caractéristiques de la distribution sont calculées à partir des formes explicites données dans le paragraphe précédent.

$$0.2 \leqslant a_2 \leqslant 20.0$$
$$5.10^4 \leqslant a_3 \leqslant 5.10^6$$

Le tableau 1, les figures 4A, 5A, 6A, résument les valeurs obtenues pour une distribution où la masse moyenne en nombre M_n est constante ($a_2 a_3$ = constante). Le tableau 2 résume les valeurs obtenues lorsque le rapport M_w / M_n est constant (a_2 = constante)

La valeur ζ_{max} obtenue en utilisant la relation (A.57) coincide avec la valeur calculée. ζ_{max} s'écarte de la valeur moyenne 1.22 lorsque la polydispersité croit : $\zeta_{max} = 1.22$. Cependant, pour un état fortement polydisperse ($M_w/M_n = 6$), l'écart n'est pas très grand. Aussi dans la relation (A.53), la valeur de Ω_{max} sera calculée pour $\zeta = 1.22$: ceci revient à négliger la valeur du rapport $\langle h^3 \rangle / \langle h^2 \rangle$, donc :

$$\Omega_{max} = 0.463 \langle h^2 \rangle \qquad (A.66)$$

Si on compare Ω_{max} calculée par cette dernière relation et calculée exactement par (A.45) :

M_w/M_n	1.05	1.10	1.20	1.50	2.00	3.00	6.00
$10^4.\Omega_{max}$ (A.45)	14	27	51	107	167	231	298
$10^4.\Omega_{max}$ (A.66)	14	27	51	106	165	227	294

Le développement utilisé en (A.2.2.1.1.) est donc justifié et la relation (A.66) que nous avions obtenue est une bonne approximation.

Fonction de distribution continue

(Tableau 1)

$b_1 = 10^{-4} cm^2.s^{-1}$ $b_2 = 0.5$ Mn = 1 000 000 $D = 1.10^{-7} cm^2.s^{-1}$

a_1	a_3	a_2	M_w/M_n	$D_A.10^7$	h^2	$-h^3$	$-h^3/h^2$	$D_1.10^7$	φ_{max}	$\Omega_{max}10^4$	D_1/D_2
$9.96\ 10^{-9}$	5.10^6	0.2	6.00	0.481	0.0635	+0.0118	+0.185	0.632	1.282	298.0	0.645
$4.00\ 10^{-10}$	2.10^6	0.5	3.00	0.658	0.0491	0.0076	0.156	0.798	1.272	231.0	0.798
$1.0\ 10^{-12}$	1.10^6	1.0	2.00	0.779	0.0356	0.0045	0.124	0.886	1.262	167.0	0.886
$4.0\ 10^{-18}$	5.10^5	2.0	1.50	0.871	0.0228	0.0022	0.096	0.940	1.252	106.5	0.940
$1.3\ 10^{-34}$	2.10^5	5.0	1.20	0.942	0.0109	0.0007	0.066	0.975	1.242	50.8	0.975
$2.8\ 10^{-62}$	1.10^5	10.0	1.10	0.970	0.0058	0.0002	0.036	0.988	1.232	27.0	0.988
$8.6\ 10^{-118}$	5.10^4	20.0	1.05	0.985	0.0030	0.0000	0.006	0.994	1.222	14.0	0.994

(Tableau 2)

$M_w/M_n = 2.0$ $a_2 = 1.0$

a_1	a_3	M_n	M_w	$D_A\ 10^7$	$D_1\ 10^7$	$D_2\ 10^7$
$16\ 10^{-12}$	$2.5\ 10^5$	$2.5\ 10^5$	$5.0\ 10^5$	1.558	1.773	2.000
$4\ 10^{-12}$	$5.0\ 10^5$	$5.0\ 10^5$	$1.0\ 10^6$	1.102	1.253	1.414
$1\ 10^{-12}$	$1.0\ 10^6$	$1.0\ 10^6$	$2.0\ 10^6$	0.779	0.886	1.000

$h^2 = 0.0356$

$h^3 = -0.0045$

$\varphi_{max} = 1.262$

$\Omega_{max} = 167.0\ 10^{-4}$

$D_1/D_2 = 0.887$

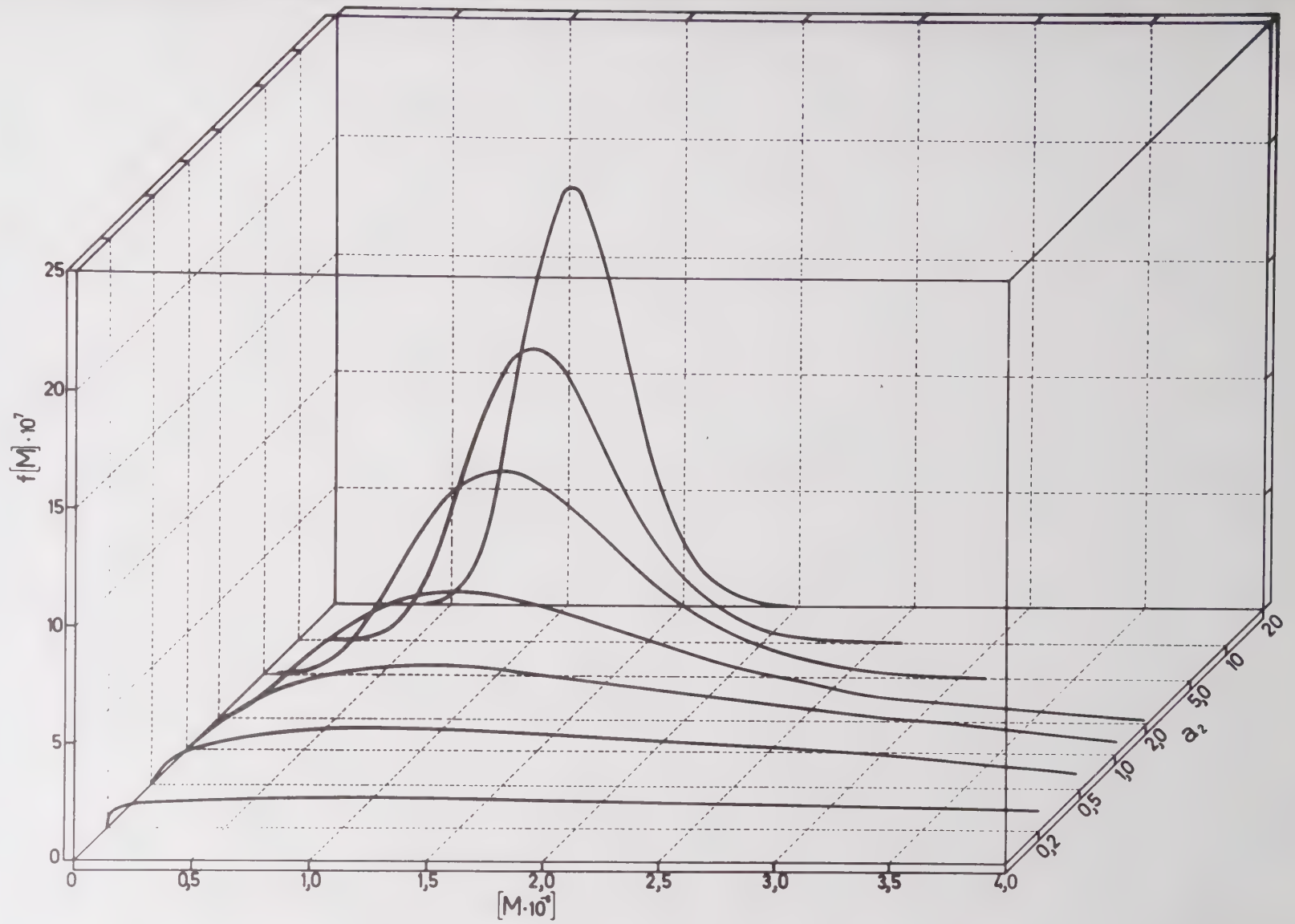


Figure 4A : Représentation de la distribution des masses moléculaires pour différentes valeurs caractéristiques a_2.

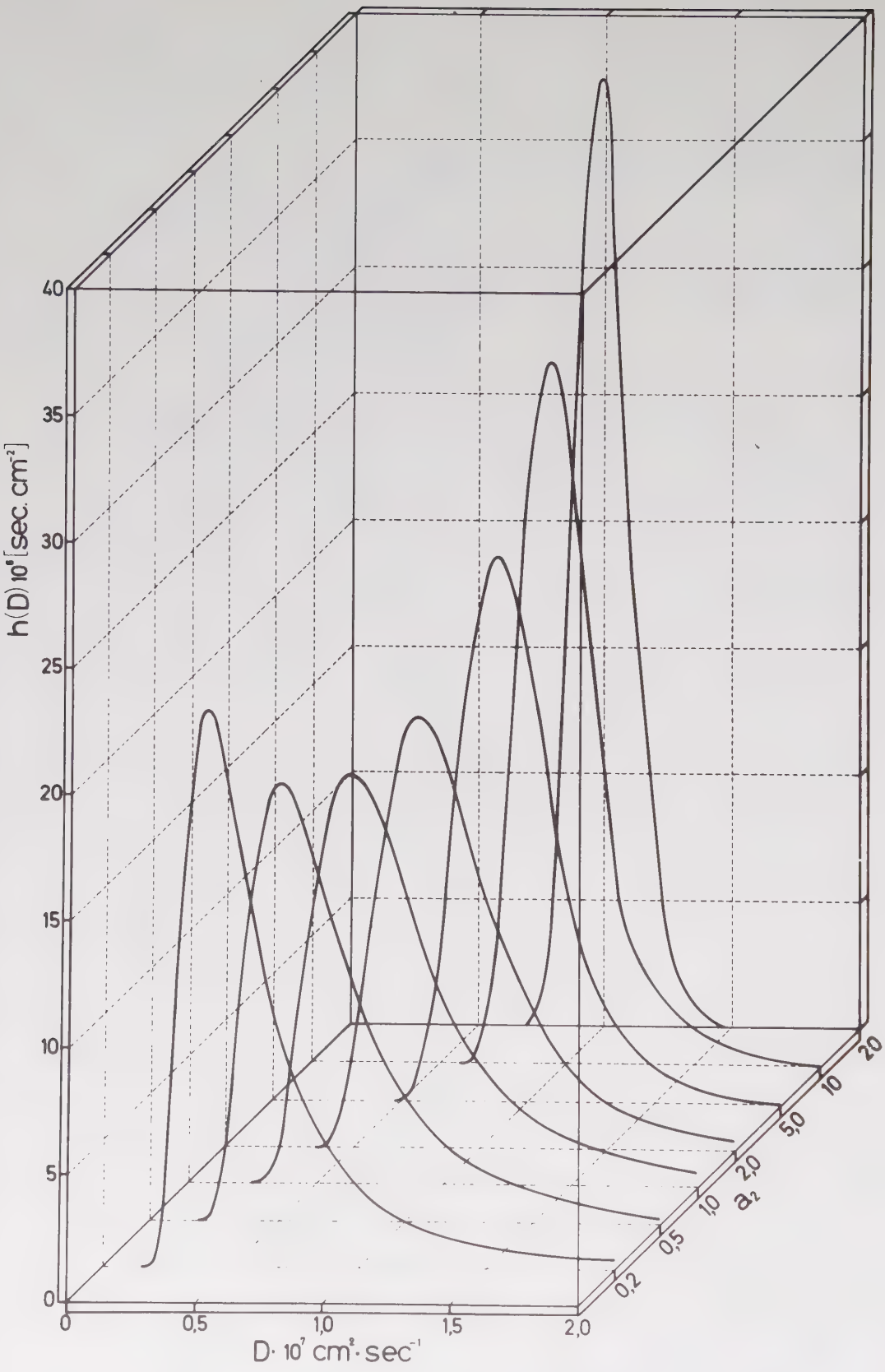


Figure 5A: Représentation des distributions des coefficients de diffusion, correspondant aux distributions des masses moléculaires représentées sur la figure 4A.

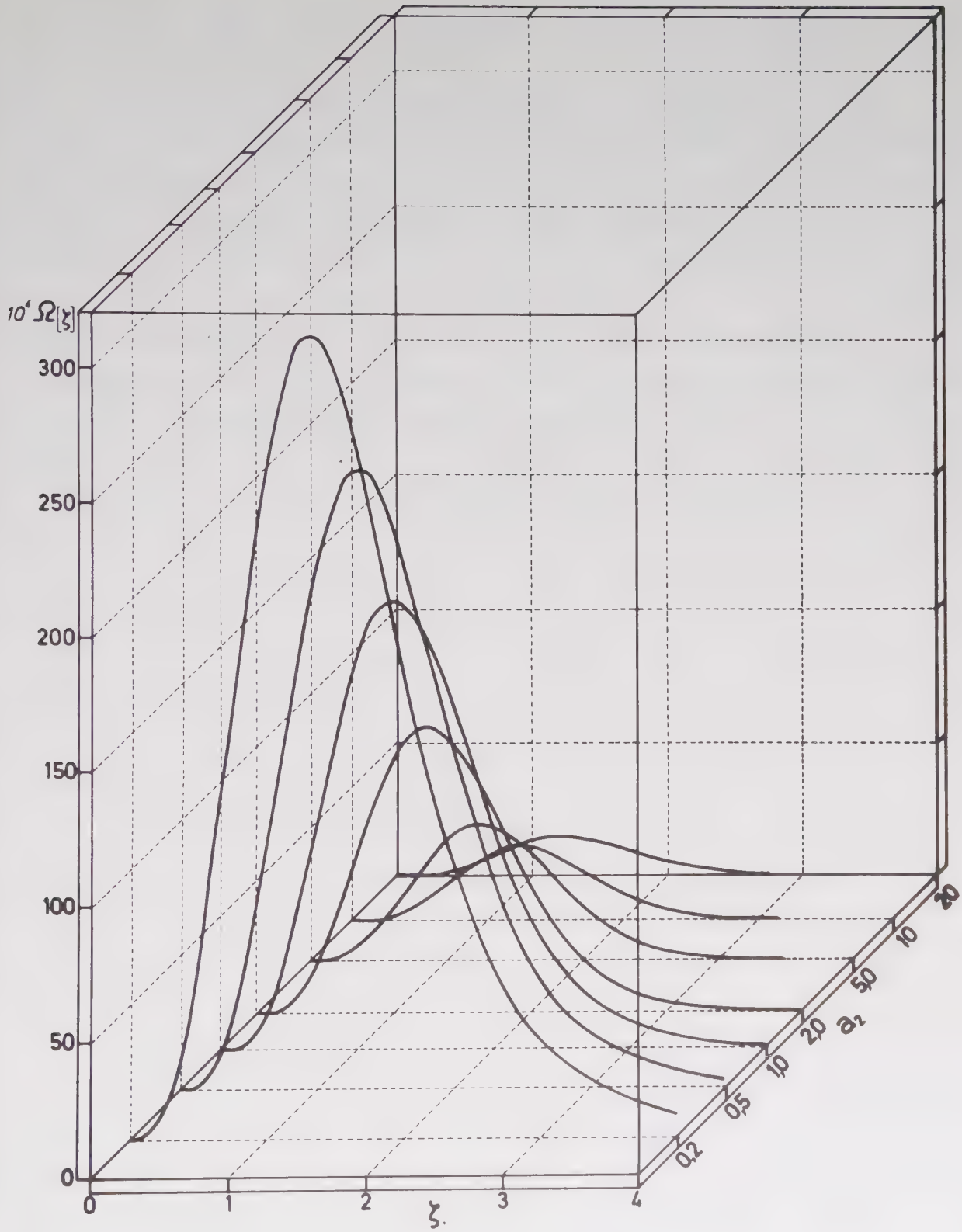


Figure 6A: Représentation de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$, en fonction de ζ (A38), calculée à partir des diverses distributions de la masse moléculaire, représentées sur la figure 4A.

A.2.2.2. Calcul d'une distribution à partir des données expérimentales

A.2.2.2.1. Calcul de convolution

DAUNE et BENOIT [34] ont remarqué que les équations intégrales telles que (A.22) peuvent être calculées au moyen des transformées de Fourier. Cette méthode s'est révélée fructueuse dans l'étude de la polydispersité des produits organiques [35] [16] [36] [17] . Pour être complet, nous donnons le mécanisme du processus employé.

Si on suppose que la fonction $f(\eta)$ est telle que les intégrales correspondantes existent et convergent, la transformée de Fourier $\hat{f}(\xi)$ de la fonction $f(\eta)$ est définie par :

$$\hat{f}(\xi) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(\eta)\, e^{i\xi\eta}\, d\eta \qquad (A.67)$$

La fonction $\hat{f}(\xi)$ est une fonction complexe :

$$\hat{f}(\xi) = \hat{f}_c(\xi) + i\, \hat{f}_s(\xi) \qquad (A.68)$$

La transformation inverse permet d'obtenir à nouveau la fonction réelle $f(\eta)$:

$$f(\eta) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{f}(\xi)\, e^{-i\eta\xi}\, d\xi \qquad (A.69)$$

Le théorème de convolution établit que, s'il existe une équation de la forme

$$f_3(u) = \int_{-\infty}^{+\infty} f_1(v).\, f_2(u - v)\, dv \qquad (A.70)$$

Les transformées de Fourier des fonctions satisfont à la relation

$$\hat{f}_3(\xi) = \hat{f}_1(\xi).\, \hat{f}_2(\xi) \qquad (A.71)$$

Pour un milieu polydisperse continu , la relation suivante a été établie :

$$\varphi(z) = \int_0^{\infty} \Phi(z/\sqrt{D}).\, h(D).dD \qquad (A.72)$$

En introduisant les transformations suivantes :

$$\xi = z/\sqrt{D_A} \quad (A.38) \qquad \alpha = D/D_A$$

il vient :

$$1 - \varphi(\alpha) = \int_0^\infty D_A\, h\,(D_A \cdot \alpha).\, \bar{\Phi}_c\,(\xi/\sqrt{\alpha})\, d\alpha \quad (A.73)$$

où $\quad \bar{\Phi}_c(u) = 1 - \bar{\Phi}(u)$

Le changement de variable :

$$\xi = e^{\sigma} \qquad \alpha = e^{2\tau} \qquad (A.74)$$

permet d'introduire une nouvelle fonction :

$$G_r(\xi) = G_r(e^{\sigma}) \equiv \xi^r(1 - \varphi(\xi)) = \int_{-\infty}^{+\infty} 2\, D_A \cdot e^{(2+r)\tau} h(D_A e^{2\tau}).e^{r(\sigma-\tau)} \bar{\Phi}_c(e^{\sigma-\tau})\, d\tau \qquad (A.75)$$

qui peut être décomposée en :

$$g_r(\sigma) \equiv G_r(e^{\sigma}) = \xi^r(1 - \varphi(\xi)) \qquad (A.76)$$

$$h_r(\tau) \equiv 2\, D_A\, e^{(2+r)\tau}\, h(D_A\, e^{2\tau}) \qquad (A.77)$$

$$f_r(\sigma-\tau) \equiv e^{r(\sigma-\tau)}\, \bar{\Phi}_c(e^{\sigma-\tau}) \qquad (A.78)$$

Soit : $\quad g_r(\sigma) = \int_{-\infty}^{+\infty} h_r(\tau).\, f_r(\sigma-\tau)\, d\tau$

D'après le théorème de convolution, les transformées de Fourier des fonctions h_r et f_r satisfont la relation suivante :

$$\hat{g}_r(\xi) = \hat{h}_r(\xi)\, .\, \hat{f}_r(\xi) \qquad (A.79)$$

A.2.2.2.1.1. Calcul de $\hat{f}_r(\xi)$

Cette fonction mathématique, définie par (A.78), peut être calculée [37] :

$$\hat{f}_r(\xi) = \frac{\Gamma\left(\frac{r+1}{2} + i\frac{\xi}{2}\right)}{\sqrt{\pi}\,(r + i\xi)} \qquad (A.80)$$

A.2.2.2.1.2. Calcul de $\hat{g}_r(\xi)$

Par définition (A.76), cette fonction est obtenue à partir de la quantité expérimentalement accessible $\varphi(\tau)$. Utilisant la relation (A.40) :

$$g_r(\sigma) \equiv G_r(\xi) = \xi^r[1 - \Phi(\xi) + \Omega(\xi)] \qquad (A.81)$$

Après transformation des variables (A.74)

$$g_r(\sigma) = f_r(\sigma) + e^{r\sigma}.\Omega(e^{\sigma}) \qquad (A.82)$$

Il faudra donc successivement calculer $g_r(\sigma)$ à partir des valeurs expérimentales puis sa transformée $\hat{g}_r(\xi)$

A.2.2.2.1.3. Calcul de $\hat{h}_r(\xi)$

La relation (A.79) donne la valeur de $\hat{h}_r(\xi)$:

$$\hat{h}_r(\xi) = \hat{g}_r(\xi) \,/\, \hat{f}_r(\xi) \qquad (A.83)$$

A.2.2.2.1.4. Calcul de $h_r(\tau)$

Il faut utiliser la transformation inverse (A.69) :

$$h_r(\tau) = \frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{+\infty} \hat{h}_r(\xi)\, e^{-i\tau\xi}\, d\xi$$

$$h_r(\tau) = \frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{+\infty}(\hat{h}_c\cos(\tau\xi) + \hat{h}\sin(\tau\xi))d\xi + \frac{i}{2\pi}\int_{-\infty}^{+\infty}(\hat{h}_s\cos(\tau\xi) - \hat{h}_c\sin(\tau\xi))d\xi$$

$$h_r(\tau) = \frac{1}{2}\int_{-\infty}^{+\infty}(\hat{h}_c\cos(\tau\xi) + \hat{h}_s\sin(\tau\xi))\,d\xi \qquad (A.75)$$

en remarquant que l'intégrant de la deuxième intégrale est une fonction paire de ξ .

A.2.2.2.1.5. Calcul de $h(D)$

$h(D)$ est obtenue à partir de $h_r(\tau)$ (A.77) en utilisant la relation $D = D_A.e^{2\tau}$ (A.74).

A.2.2.2.1.6. Discussion

Ce procédé permet donc à partir de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\xi)$, expérimentalement accessible, de calculer la fonction de fréquence $h(D)$. Il est évident que ces transformations développent un certain nombre de difficultés numériques [17]. La précision des valeurs prises par la fonction $g_r(\sigma)$ est donnée par la précision obtenue sur les valeurs $\Omega(\xi)$ et sur les abscisses ξ . De plus, les transformées de Fourier introduisent des fonctions périodiques. L'intégration (calcul de $\hat{g}_r(\xi)$ ou de $h_r(\tau)$, la division (calcul de $\hat{h}_r(\xi)$) de ces fonctions dépend grandement du choix des périodes [37].

A.2.2.2.2. Méthode directe à partir de D_A et de Ω_{max}

Partant des valeurs expérimentales Ω_{max} et D_A , il est possible d'obtenir toutes les caractéristiques de la distribution et de reconstituer cette dernière. Un certain nombre d'abaques facilitent cette étape. Ils tiennent compte des relations établies en A.2.2.1.2. et A.2.2.1.3. (Figures 7A et 8A).

A.2.2.3. Discussion

Parmi les résultats que nous donnerons dans la troisième partie (Section C.2), il n'y en a pas qui illustre le cas de la polydispersité continue. Il nous semble cependant que des produits biologiques peuvent avoir un tel comportement (systèmes multienzymatiques, association lipide-protéine, ...). Pour comparer les deux méthodes de calcul, nous utiliserons des résultats de L.O. SUNDELÖF [17].

Pour la fraction B du polydiméthylsiloxane (PDMS-B), SUNDELÖF obtient :

$$D_A = 4.14\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$$

$$\Omega_{max} = 172\ 10^{-4}$$

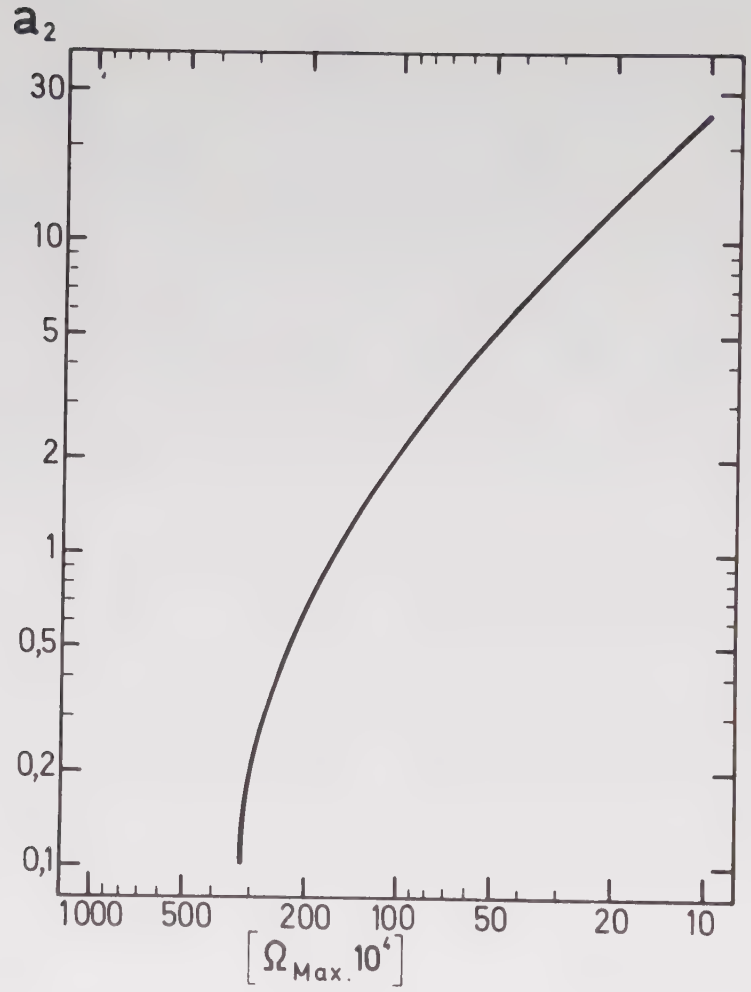


Figure 7A: Polydispersité continue. Variation de a_2 (A.53), caractéristique de la distribution, en fonction de la valeur maximale de la fonction de déviation.

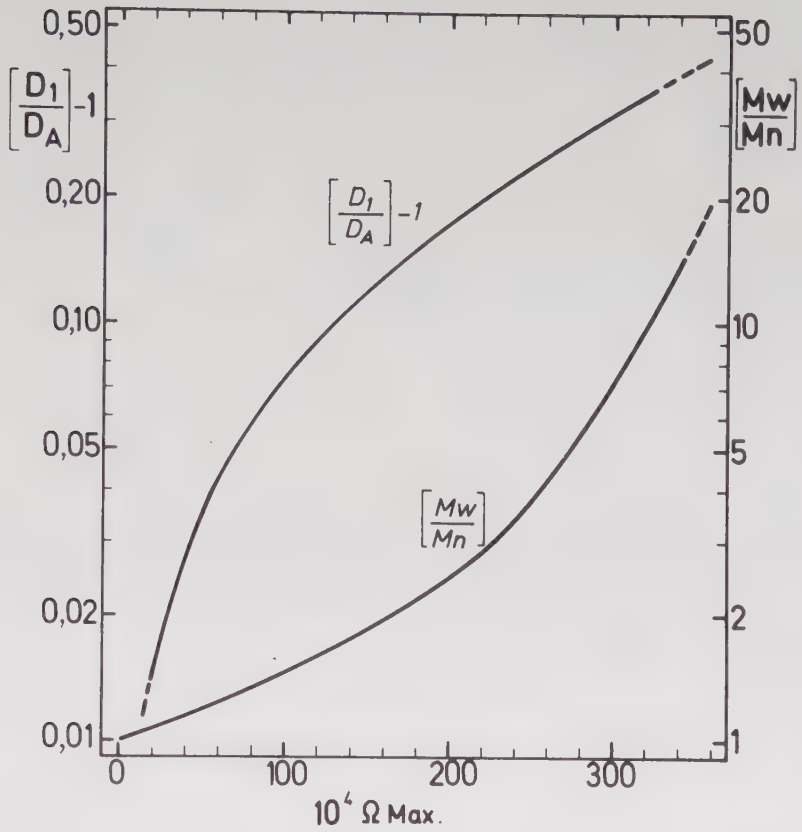


Figure 8A : Polydispersité continue. Variations de diverses caractéristiques de la distribution en fonction de la valeur maximale de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\mathfrak{Z})$.

Par la méthode graphique que nous avons développée,

la Figure 7A donne : $a_2 = 0.93$ soit $Mw/M_n = 2.08$

la Figure 8A donne : $D_1 = 4.74\ 10^{-7}\ cm^2.\ s^{-1}$

la relation (A.62) donne : $D_2 = 5.39\ 10^{-7}\ cm^2.\ s^{-1}$

la Figure 8A donne : $D_1/D_A = 1.15$

$$a_3 = 3.71\ 10^4 \qquad a_1 = 0.8$$

ce qui permet de tracer les distributions h(D) et f(M). Les résultats sont à comparer à ceux obtenus par SUNDELÖF [17] après application du calcul de convolution, soit :

$$D_1 = 4.40\ 10^{-7}\ cm^2.\ s^{-1} \quad D_A = 3.74\ 10^{-7}\ cm^2.s^{-1} \quad D_1/D_A = 1.18$$

Le procédé que nous avons développé se révèle aussi précis que le calcul de convolution, tout en évitant les complications numériques de ce dernier. Il postule cependant a priori la forme de la distribution.

A.2.3. POLYDISPERSITE DISCONTINUE OU DISCRETE

Sous cette définition, on décrit le cas où les masses moléculaires étudiées sont suffisamment différentes pour que l'on puisse considérer la fonction de fréquence comme une somme de distributions de Dirac. La fonction de fréquence est alors :

$$f(M) = \sum_i c_i \cdot \delta(M - M_i) \qquad (A.76)$$

avec $$\sum_i c_i = 1$$

A.2.3.1. Solution numérique . Calcul de $\Omega(\zeta)$

A.2.3.1.1. Etude mathématique de $\Omega(\zeta)$

La fonction de fréquence des coefficients de diffusion est alors définie par :

$$h(D) = \sum_i c_i \cdot \delta(D - D_i) \qquad (A.77)$$

avec $$D_i = D(M_i) \qquad (A.29)$$

Les définitions des moyennes (A.47), introduites en A.2.1.4., restent valables. Par exemple :

$$\langle B(D) \rangle = \int_0^\infty \sum_i c_i \, B(D) \, \delta(D-D_i) \, dD = \sum_i c_i \, B(D_i) \qquad (A.78)$$

La relation (A.48) s'écrit alors :

$$\Omega(\zeta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left(\int_0^{\zeta} e^{-u^2} \, du - \sum_i c_i \int_0^{\zeta \sqrt{\frac{D_A}{D_i}}} e^{-u^2} \, du \right) \qquad (A.79)$$

et $$\frac{1}{\sqrt{D_A}} = \sum_i \frac{c_i}{\sqrt{D_i}} \qquad (A.80)$$

enfin : $$\frac{d\Omega(\zeta)}{d\zeta} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left(e^{-\zeta^2} - \sum_i c_i \sqrt{\frac{D_A}{D_i}} \, e^{-\zeta^2 \frac{D_A}{D_i}} \right) \qquad (A.81)$$

Les propriétés de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ sont très différentes de celles calculées dans le cas de la polydispersité continue. En voici quelques unes.

A.2.3.1.1.1. Propriétés de la fonction dérivée

Pour éviter toute confusion dans l'écriture, on désignera par d_i le coefficient de diffusion de l'espèce moléculaire M_i et par D_i les moyennes des coefficients de diffusion. En posant

$$x_i \equiv \sqrt{\frac{D_A}{d_i}} \qquad (A.82)$$

Nous voulons démontrer que la fonction $\Omega(\xi)$ n'a qu'un seul maximum, on remarque que :

$$\left.\begin{aligned} \sum_i c_i\, x_i &= 1 \\ \sum_i c_i &= 1 \end{aligned}\right\} \quad \text{entraine :} \quad \sum_i c_i\,(x_i - 1) = 0$$

c'est à dire qu'il existe des valeurs

$$\left.\begin{aligned} x_i \quad &\text{telles que} \quad x_i \geqslant 1 \\ x_j \quad &\text{telles que} \quad x_j \leqslant 1 \end{aligned}\right\} \qquad (A.83)$$

Si l'on désigne par u la valeur pour laquelle la dérivée (A.81) est nulle, on peut écrire :

$$1 = \sum_i c_i\, x_i\, e^{-u(x_i^2 - 1)} + \sum_j c_j\, x_j\, e^{u(1 - x_j^2)}$$

ou

$$L = L^-_{(x_i \geqslant 1)} + L^+_{(x_j \leqslant 1)} = 1$$

L'étude des variations de la fonction L va permettre de montrer que $\Omega(\xi)$ n'a qu'un seul maximum. En effet

$$\frac{dL}{du} = \frac{dL^-}{du} + \frac{dL^+}{du} = 0$$

$$\frac{dL^-}{du} = -\sum_i c_i\, x_i\, (x_i^2 - 1)\, e^{-u(x_i^2 - 1)} < 0 \qquad (\forall\, x_i \geqslant 1)$$

$$\frac{d^2L^-}{du} = \sum_i c_i\, x_i\, (x_i^2 - 1)^2\, e^{-u(x_i^2 - 1)} > 0 \qquad (\forall\, x_i \geqslant 1)$$

$\frac{dL^-}{du}$ est donc une fonction monotone croissante toujours négative variant de $-\sum_i c_i\, x_i\, (x_i^2 - 1)$ à zéro.

$\frac{dL^+}{du}$ est de même une fonction monotone croissante toujours positive variant de $\sum_j c_j\, x_j\, (1 - x_j^2)$ à l'infini

$$-\left(\frac{dL^-}{du}\right)_{u=0} = \sum_i c_i\, x_i(x_i^2-1) = \sum_i c_i\, x_i(x_i+1)(x_i-1) \geqslant 2\sum_i c_i\, x_i(x_i-1)$$

$$(x_i \geqslant 1)$$

$$\left(\frac{dL}{du}\right)_{u=0} = \sum_j c_j\, x_j(1-x_j^2) = \sum_j c_j\, x_j(1+x_j)(1-x_j) \leqslant 2\sum_j c_j\, x_j(1-x_j)$$

$$(x_j \leqslant 1)$$

Or : $$\sum_i c_i\, x_i(x_i - 1) = \sum_j c_j\, x_j(1 - x_j)$$

donc : $$-\left(\frac{dL^-}{du}\right)_{u=0} > \left(\frac{dL^+}{du}\right)_{u=0}$$

Les deux fonctions $-\frac{dL^-}{du}$ et $\frac{dL^+}{du}$ monotones, l'une décroissante, l'autre croissante, se coupent en un seul point u_n. Il n'y a qu'un minimum pour la fonction L tel que $L(u) = 1$ et partant la dérivée (A.81) ne s'annule qu'en un seul point. Ceci signifie donc que la fonction $\Omega(\zeta)$ aura un seul maximum pour une valeur $\zeta \neq 0$. (Figure 9 A).

A.2.3.1.1.2. Etude de ζ_{max}

Dans le développement limité effectué dans le cas de la distribution continue, on admet que $\sqrt{\frac{D_A}{D}}$ est voisin de l'unité. Dans le cas de la polydispersité discontinue, il n'en va pas de même en général. Cependant si l'on considère le cas où les masses sont suffisamment voisines, la distribution tend vers une distribution continue. Dans ce cas, il avait été démontré que la valeur ζ^2_{max} était donnée par :

$$\zeta^2_{max} = \frac{3}{2} - \frac{\langle h^3\rangle}{\langle h^2\rangle} \qquad (A.56)$$

Considérant une solution, contenant deux produits 1 et 2 (d_1, d_2), il est facile de montrer que :

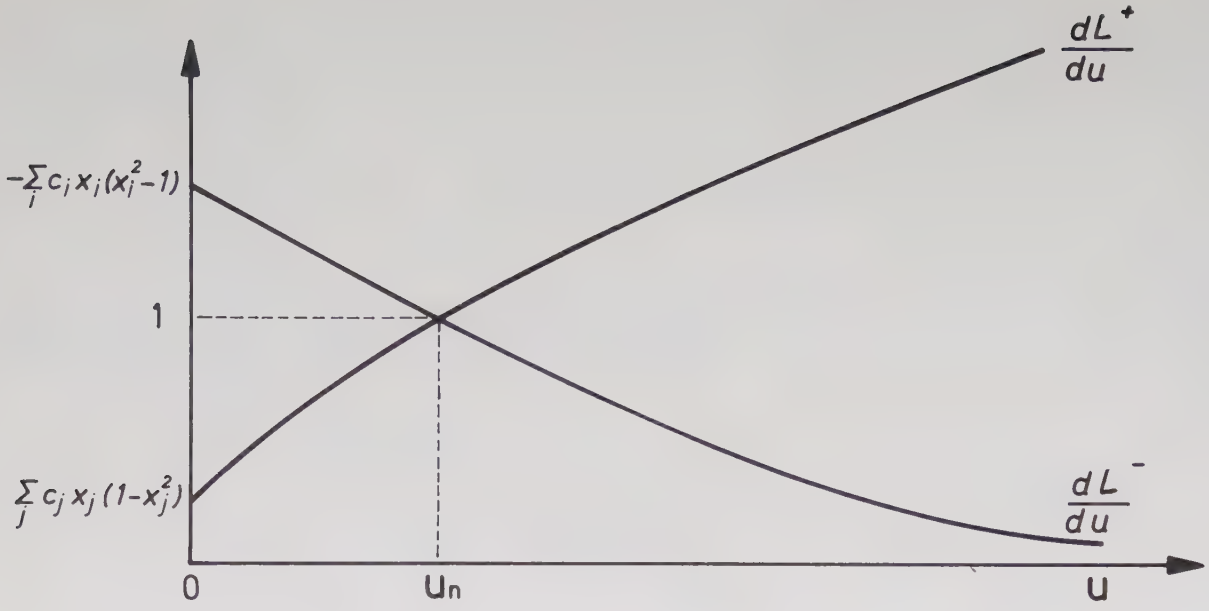


Figure 9A. (cf. A.2.3.1.1.1.)

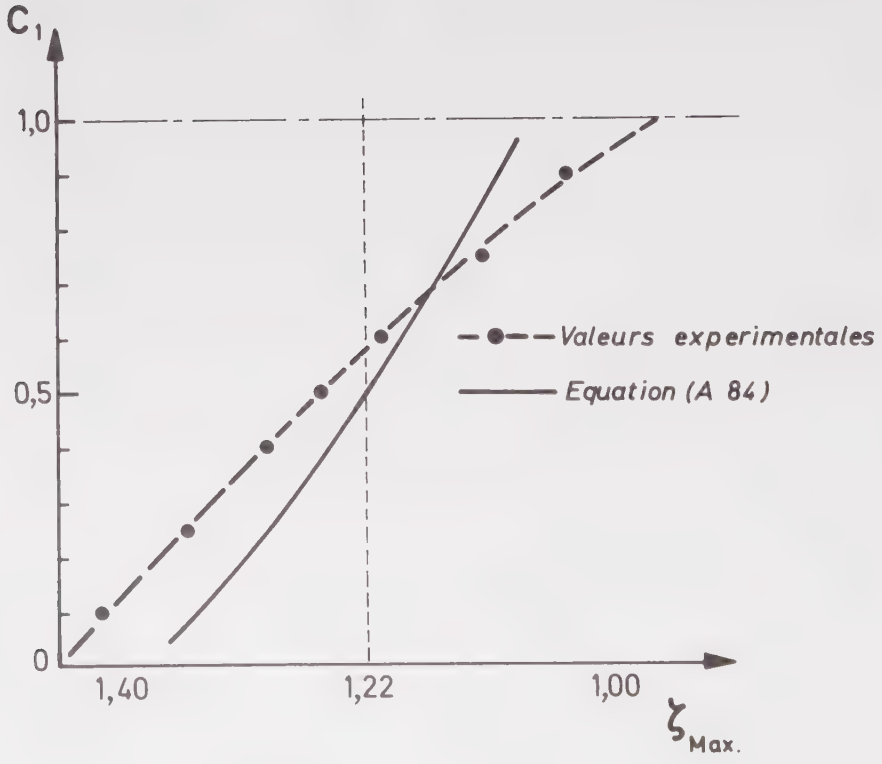


Figure 10A. (cf. A.2.3.1.1.2.)

$$\langle h^p \rangle \equiv \sum_{i=1}^{2} c_i \left(\sqrt{\frac{D_A}{1}} - 1 \right)^p = \frac{c_1 c_2 (x_1 - x_2)^p (c_1^{p-1} + (-1)^p c_2^{p-1})}{(c_1 x_1 + c_2 x_2)^p}$$

où $$x_i \equiv \sqrt{\frac{D_A}{d_i}} \qquad \text{(A.82)}$$

ou encore :

$$\langle h^p \rangle = \frac{c_1 c_2 (1-r)^p \, (c_1^{p-1} + (-1)^p \, c_2^{p-1})}{(c_1 + c_2 \, r)^p}$$

avec $$r \equiv x_2/x_1 \qquad (r > 1)$$

Si on admet que la distribution étudiée est voisine d'une distribution continue, à la limite il vient :

$$\zeta^2_{max} = \frac{3}{2} - (c_2 - c_1) \, \frac{1-r}{c_1 + c_2 \, r} + 0(x_i)$$

ou, en éliminant c_2 $(c_1 + c_2 = 1)$:

$$\zeta^2_{max} = \frac{3}{2} + \frac{2c_1 - 1}{c_1 - \frac{r}{r-1}} \qquad \text{(A.84)}$$

La figure 10A montre la variation de la fonction ζ^2_{max} en relation avec la concentration c_1 du produit léger. On voit donc que ζ_{max} peut dans ce cas être supérieur ou inférieur à $1.22 = \left(\sqrt{\frac{3}{2}}\right)$ et que ζ_{max} est d'autant plus petit que la concentration du produit léger est plus élevée.

A.2.3.1.1.3. Etude de Ω_{max}

La relation (A.79), si l'on tient compte des relations (A.82) et (A.83), peut être écrite de la façon suivante :

$$\Omega(\zeta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left(\int_0^{\zeta} e^{-u^2} \, du - \sum_i c_i \cdot \int_0^{\zeta x_i} e^{-u^2} \, du - \sum_j c_j \cdot \int_0^{\zeta x_j} e^{-u^2} \, du \right)$$

(A.85)

avec $\sum_i c_i + \sum_j c_j = 1$ $\qquad x_i \geqslant 1$ $\qquad x_j \leqslant 1$

Le développement limité, appliqué dans le cas de la polydispersité continue (A.2.2.1.1.), cesse d'être convergent ; (x_i-1) et $(1-x_j)$ ne peuvent plus être considérés comme petits. Nous n'avons obtenu dans ce cas aucune expression simple. Etant donné la forme de l'expression (A.85), les gaussiennes, représentant la diffusion de chaque espèce moléculaire, ont des caractéristiques nettement différentes $(x_i \geqslant 1,\ x_j \leqslant 1)$. La somme de ces dernières sera très différente d'une gaussienne. Ainsi les valeurs obtenues pour $\Omega(\zeta_{max})$ en particulier seront nettement différentes de celles obtenues dans le cas de la polydispersité continue.

A.2.3.1.2. Propriétés de la distribution (deux composés)

L'étude de la distribution permet de déduire un certain nombre de relations entre les paramètres expérimentaux D_A, D_1, D_2,... et les caractéristiques de celle-là (c_i, d_i). Les relations initiales sont les suivantes dans le cas à deux composés $(d_1 \quad d_2)$:

$$D_1 = c_1 d_1 + c_2 d_2$$

$$D_2^2 = c_1 d_1^2 + c_2 d_2^2$$

$$D_A = \frac{1}{\left(c_1 \frac{1}{\sqrt{d_1}} + c_2 \frac{1}{\sqrt{d_2}}\right)^2} \qquad \text{(A.86)}$$

$$c_1 + c_2 = 1$$

Algébriquement les quatre inconnues c_1, c_2, d_1, d_2 sont calculables au moyen des quatre équations (A.86). La solution a cependant une forme complexe qui rend son utilisation difficile. Les relations suivantes ont pu être établies :

$$d_1 = D_1 \left[1 + \left(\frac{c_2}{c_1} \right)^{1/2} \left(\frac{D_2^2 - D_1^2}{D_1^2} \right)^{1/2} \right]$$

$$d_2 = D_1 \left[1 - \left(\frac{c_1}{c_2} \right)^{1/2} \left(\frac{D_2^2 - D_1^2}{D_1^2} \right)^{1/2} \right]$$

$$D_2^2 = D_1(d_1 + d_2) - d_1 d_2 \qquad \text{(A.87)}$$

$$\frac{1}{\sqrt{D_A}} = \frac{D_1 - (d_1 + d_2 + \sqrt{d_1 d_2})}{\sqrt{d_1 d_2}\ (\sqrt{d_1} + \sqrt{d_2})}$$

$$\frac{M_w}{M_n} = 1 + c_1 c_2 \left(\frac{d_2}{d_1} - \frac{d_1}{d_2} \right)^2$$

La connaissance de ces relations facilite l'étude numérique des distributions théoriques mais ne permet pas une étude graphique, comparable à celle proposée pour la polydispersité continue.

A.2.3.1.3. Solution numérique (Programme CHATONS)

Pour permettre le calcul numérique, la fonction de fréquence (A.76) a été approximée par une somme de gaussiennes normées :

$$f(M) = \sum_{i=1}^{N} c_i \frac{1}{\sigma_i \sqrt{2\pi}} e^{-\left(\frac{M - M_i}{\sigma_i \sqrt{2}} \right)^2} \qquad \text{(A.88)}$$

Les relations (A.41), (A.42), permettent de calculer les valeurs $\Omega(\varsigma)$ et $d\Omega(\varsigma)/d\varsigma$ pour diverses valeurs des couples (c_i, M_i). La relation de transfert entre la masse moléculaire et le coefficient de diffusion est toujours du type (A.39) avec $b_1 = 10^{-4} cm^2 s^{-1}$ et $b_2 = 0.5$.

L'écart quadratique moyen σ_i est choisi tel que :

$$\sigma_i = 0.2 \qquad \text{pour} \quad M_i \geqslant 2000$$
$$\sigma_i = M_i.10^{-4} \qquad \text{pour} \quad M_i < 2000$$

Ce choix est déterminé par la précision désirée pour les valeurs des intégrales.

Les intégrales en D et en M ne sont calculées que dans les zones où les fonctions de distribution sont non nulles. L'intervalle d'intégration est défini par $[M_i - 10\sigma_i \; ; \; M_i + 10\sigma_i]$. La méthode d'intégration est celle de SIMPSON à trois points [33] avec un pas de $(M_i - 10\sigma_i).10^{-6}$. Les intégrales sont calculées à une précision de 10^{-5}. La recherche des valeurs ζ_{max}, pour lesquelles $(d\Omega/d\zeta = 0)$, est effectuée par la méthode de Mueller [38].

La figure 11A montre un exemple de distributions des masses et des coefficients de diffusion. Il apparait clairement ici qu'une répartition symétrique en masse entraine une forte disymétrie pour la répartition des coefficients de diffusion correspondants (terme en $1/D^3$ dans h(D) . (A.42)). Les tableaux suivants 3, 4, les figures 12A, 13A, résument quelques cas étudiés.

Trois conclusions importantes doivent en être tirées :

- Comme le laissait prévoir l'étude de ζ_{max} (A.2.3.1.1.2. et Figure 12A), ζ_{max} peut être supérieur ou inférieur à 1.22. Cependant les valeurs obtenues diffèrent sensiblement des valeurs prévues par la relation (A.84). Le développement utilisé pour obtenir (A.56) est en effet insuffisant dans ce cas.

- Les valeurs maximales Ω_{max} de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ sont nettement supérieures à celles obtenues dans le cas de la polydispersité continue. Plus les composés ont des masses différentes, plus la valeur du maximum est élevée (Figure 13 A).

- Aucune relation simple entre les caractéristiques de la distribution et les paramètres expérimentaux n'a pu être trouvée graphiquement.

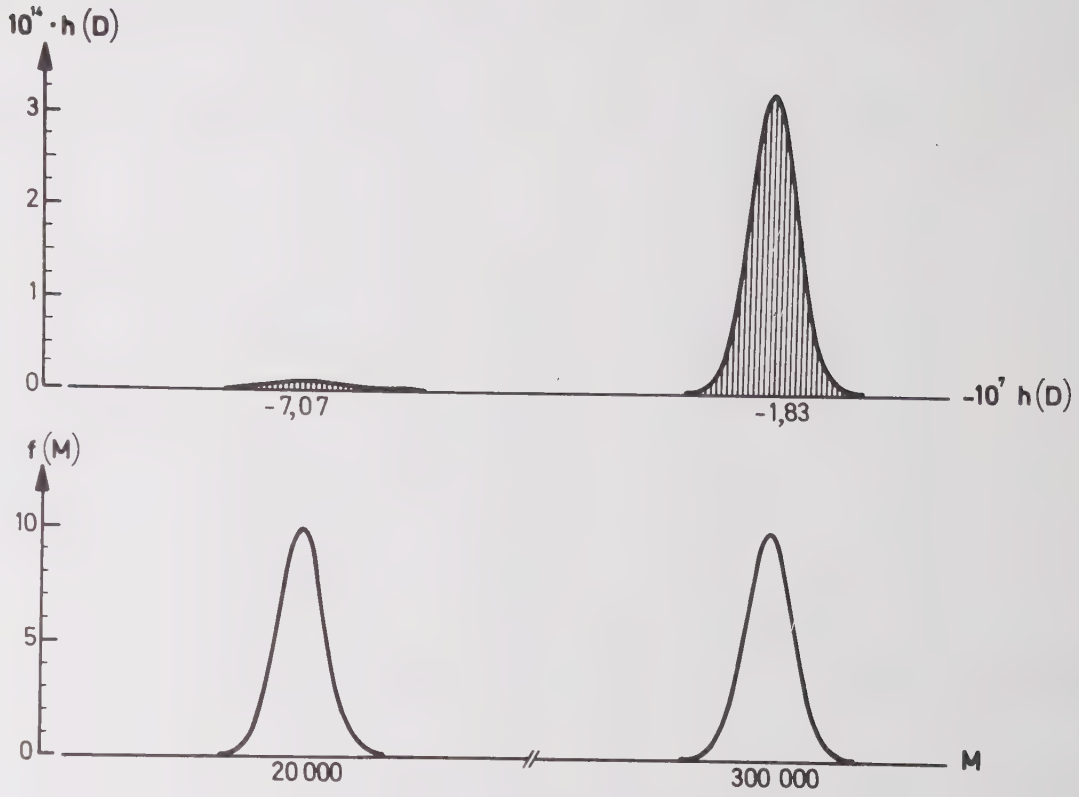


Figure 11A: . Représentation de la fonction de fréquence des masses moléculaires dans un cas à deux composés en bas.

. Représentation de la fonction de fréquence des coefficients de diffusion correspondants en haut.

TABLEAU 3 : DISTRIBUTION DISCONTINUE 2 espèces $M_1 = 20\,000$ $M_2 = 300\,000$
Concentrations c_1 et c_2 variables.

c_1	c_2	M_w/M_n	$D_A.10^7$	$D_1.10^7$	$D_2.10^7$	ς_{max}	$\Omega_{max}.10^4$
0.00	1.00	1.0	1.83	1.83	1.83	-	0
0.10	0.90	2.2	2.02	2.35	2.83	1.462	151
0.25	0.75	3.4	2.37	3.14	3.87	1.382	332
0.40	0.60	4.1	2.83	3.92	4.69	1.312	453
0.50	0.50	4.3	3.21	4.45	5.16	1.260	493
0.60	0.40	4.1	3.68	4.97	5.60	1.207	495
0.75	0.25	3.4	4.59	5.76	6.19	1.124	415
0.90	0.10	2.2	5.88	6.55	6.73	1.042	215
1.00	0.00	1.0	7.06	7.06	7.06	-	0

TABLEAU 4 : DISTRIBUTION DISCONTINUE 2 espèces M_2 = 300 000 M_1 : variable

Concentrations fixes : $c_2 = 0.25$ $c_1 = 0.75$

M_1	M_w/M_n	$D_A.10^7$	$D_1.10^7$	$D_2.10^7$	$\mathcal{S}_{max}$	$\Omega_{max}.10^4$
200	281.8	13.30	53.48	61.24	1.176	2586
2000	28.7	8.47	17.22	19.39	1.111	1343
20000	3.4	4.59	5.76	6.19	1.124	415

Concentrations fixes : $c_2 = 0.75$ $c_1 = 0.25$

M_1	M_w/M_n	$D_A.10^7$	$D_1.10^7$	$D_2.10^7$	$\mathcal{S}_{max}$	$\Omega_{max}.10^4$
200	281.8	2.93	19.04	35.38	1.709	1419
2000	28.7	2.71	6.96	11.29	1.547	889
20000	3.4	2.37	3.14	3.87	1.382	332

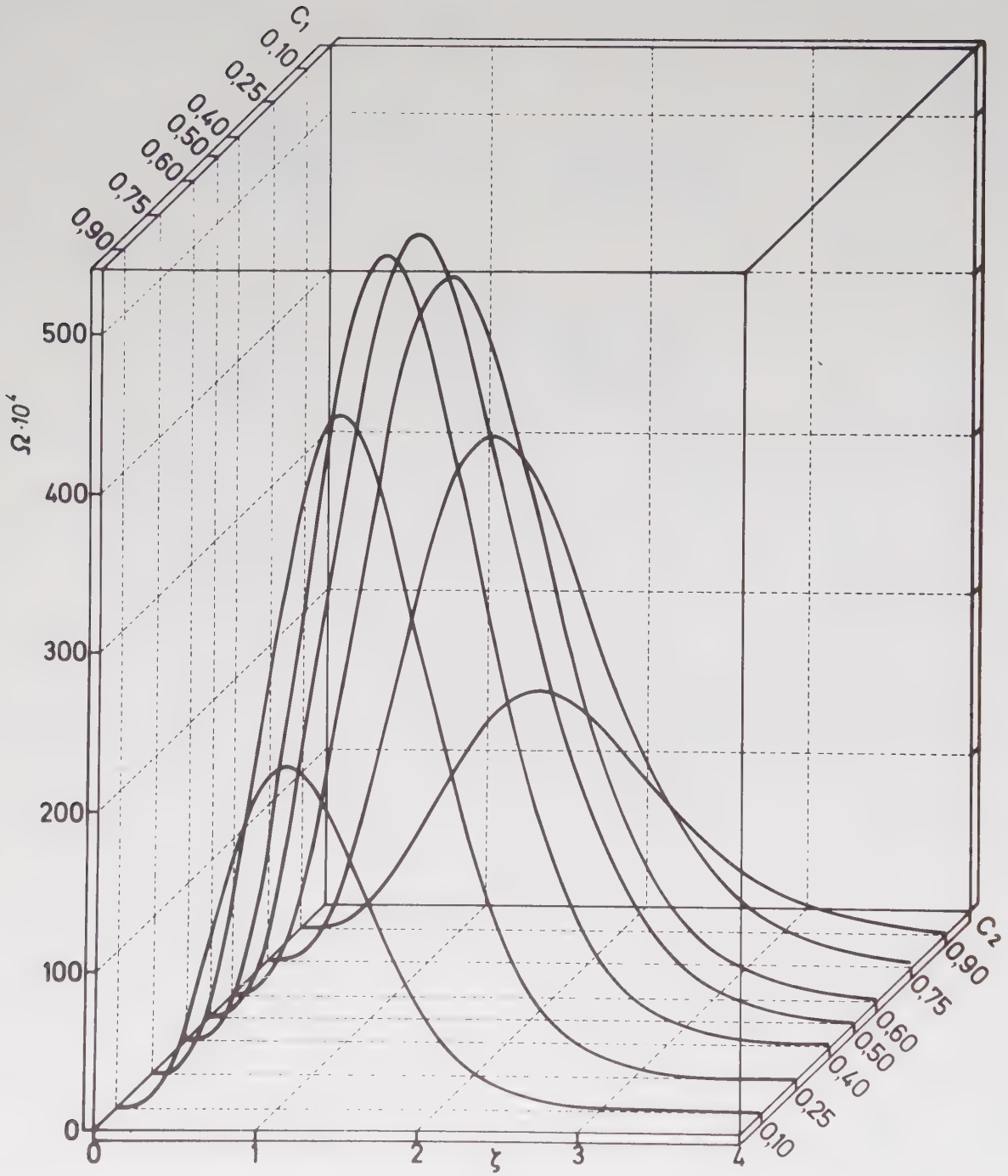


Figure 12A: Variation de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$, pour différentes valeurs des concentrations c_1 et c_2 dans le cas d'un mélange à deux composés de masses M_1=20000 et M_2=300000.

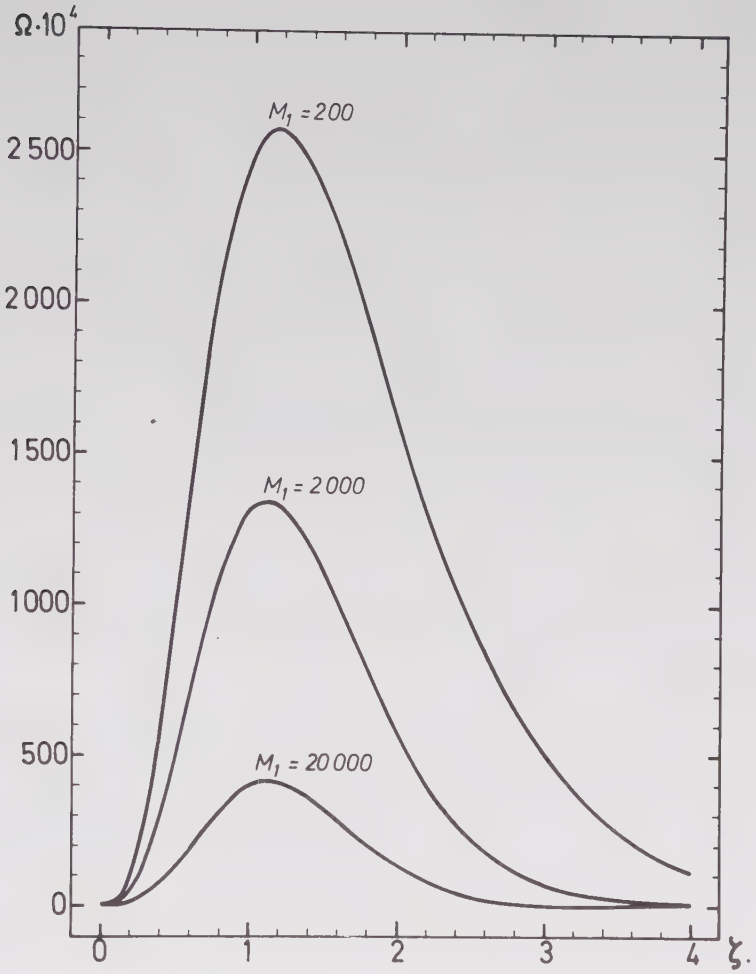


Figure 13A: Variation de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$, pour différentes valeurs de la masse moléculaire M_1 dans le cas d'un mélange à deux composés (concentrations $c_1=0.75$, $c_2=0.25$; masse $M_2=300000$).

A.2.3.2. Calcul d'une distribution à partir des données expérimentales

Comme nous l'avons vu, les fonctions de distribution se présentent comme la somme de fonctions de Dirac, relatives à chacune des espèces moléculaires présentes. Or la transformée de Fourier d'une telle fonction est la somme de sinusoïdes de périodes différentes, dont le module ne tend pas vers zéro lorsque ξ croit (voir A.2.2.2.1.). Pour espérer séparer les diverses fonctions, le quotient $\hat{h}_r(\xi)$ doit par conséquent être connu avec précision pour des valeurs rapprochées de ξ d'une part et jusqu'à des valeurs élevées de ξ d'autre part. Or la fonction expérimentale $\Omega(\zeta)$, qui permet de calculer $\hat{h}_r(\xi)$, n'est obtenue que pour un nombre limité de valeurs ζ et est de l'ordre de 20.10^{-4} pour des valeurs de ζ supérieures à 3.5 environ. Les valeurs de $\Omega(\zeta)$ correspondent alors à l'imprécision expérimentale, ce qui ne permet pas de calculer $\hat{h}_r(\xi)$ avec la précision souhaitable. Ainsi l'application du calcul de convolution dans le cas de la polydispersité discontinue ne permettra pas de distinguer entre une distribution continue et une distribution discontinue [16].

Etant donné que le nombre de composés est a priori inconnu, seule une méthode algébrique de décomposition peut être proposée dans le cas de la polydispersité discontinue. La relation (A.23) permet d'écrire :

$$\varphi(z) = \sum_i \Phi\left(\frac{z}{\sqrt{d_i}}\right) \cdot c_i = \sum_i \frac{c_i}{\sqrt{\pi}} \cdot \int_0^{\frac{z}{\sqrt{d_i}}} e^{-u^2} du \qquad \text{(A.89)}$$

$\varphi(z)$ est une fonction expérimentalement accessible (A.1.6) ainsi que z (A.3). En dérivant cette dernière par rapport à z

$$\frac{d\varphi(z)}{dz} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \cdot \sum_i c_i \cdot \frac{1}{\sqrt{d_i}} \cdot e^{-\frac{z^2}{d_i}} \qquad \text{(A.90)}$$

Le calcul numérique de la dérivée de $\varphi(z)$ est possible. Il s'agit alors de rechercher le recouvrement de la dérivée (A.90) par une somme d'exponentielles. Il faut signaler que d'autres fonctions expérimentalement accessibles comme $d\Omega(\zeta)/d\zeta$ (A.81) pourraient

être également utilisées. Cependant le calcul de cette dernière nécessite un nombre supérieur de manipulations numériques.

La dérivation de la fonction expérimentale $\varphi(z)$ est effectuée en cherchant les termes d'un développement local en série de Taylor pour des valeurs équidistantes de l'abscisse [39]. La décomposition en sommes d'exponentielles est effectuée par essais successifs en utilisant le critère des moindres carrés [33]. Ces procédés ont été essayés sur les distributions théoriques (CHATONS) et permettent de retrouver les distributions théoriques initiales lorsque la discontinuité de celles-ci est bien marquée, que le nombre d'espèces en présence n'est pas trop grand ($n < 5$), que la concentration d'une espèce particulière est non négligeable (> 0.05). Nous donnerons dans la partie C.2. l'application à un cas concret. Une étude systématique de solutions polydisperses discontinues, dont les composés seraient connus au préalable, n'a cependant pas été exécutée.

A.2.4. DISCUSSION

A.2.4.1. Distinction entre polydispersité continue et polydispersité discontinue

De l'étude mathématique de $\Omega(\varsigma)$ que nous avons faite dans les deux cas de polydispersité, deux critères peuvent être tirés pour qualifier la distribution correspondante.

$\varsigma_{max} < 1.15$

ou $\varsigma_{max} > 1.30$ La distribution est certainement discontinue

$1.15 < \varsigma_{max} < 1.30$ La distribution peut être continue ou discontinue. La valeur Ω_{max} est alors un critère de distinction.

$\Omega_{max} > 300.10^{-4}$ La distribution est discontinue

$\Omega_{max} < 300.10^{-4}$ La distribution est continue

Ces critères de choix sont d'autant plus efficaces que la nature continue ou discontinue de la distribution étudiée est plus affirmée. Ainsi quand le nombre des espèces moléculaires en présence est très grand ou que celles-ci sont très voisines, il faudra appliquer les méthodes de calcul proposées pour les deux cas de distribution.

A.2.4.2. Autres méthodes

D'autres méthodes permettent d'analyser l'état d'une solution (ultracentrifugation analytique, électrophorèse sur gel, chromatographie sur colonne, diffusion de la lumière, ...). Elles pourront soit confirmer le choix fait à partir des résultats de diffusion de translations, soit préciser la nature de la distribution lorsque les critères définis au paragraphe précédent se seront révélés insuffisants. Il est certain que l'analyse homogène de l'ensemble des résultats fournis par ces diverses méthodes permet de décrire avec précision l'état d'une solution. Cependant ces méthodes, au contraire de la diffusion de translation et de la diffusion de la lumière, ont toutes une action perturbatrice sur les solutions (pression hydrostatique élevée, modification des charges...) dont l'incidence sur les résultats obtenus est difficile à apprécier.

CONCLUSION

L'étude mathématique des solutions polydisperses continues et discontinues nous a permis d'établir des critères expérimentaux de distinction entre ces deux cas. Le calcul de convolution, bien qu'il soit théoriquement séduisant, n'est ni nécessaire (polydispersité continue), ni possible (polydispersité discontinue). La méthode de décomposition en sommes d'exponentielles, que nous proposons pour la polydispersité discontinue, montre au contraire de la polydispersité continue l'avantage des méthodes optiques différentielles où l'étape de différentiation numérique peut être évitée. Enfin l'utilisation d'autres méthodes d'analyse est nécessaire lorsque le caractère continue ou discontinue de la polydispersité n'est pas nettement affirmé.

B. ASPECT TECHNIQUE .

B. ASPECT TECHNIQUE

La détermination du coefficient de diffusion implique la solution de deux problèmes techniques. Il faut d'abord réaliser expérimentalement les conditions initiales définies en (A.1), c'est à dire mettre en contact deux liquides sans les mélanger. Une fois atteint ce but, il faut mettre au point un procédé efficace de numérisation des clichés d'interférence. Les solutions de ces deux problèmes ont déjà été abordées (Aspect Expérimental. I. [0]). Cependant un certain nombre d'améliorations ont dû être apportées au projet initial. Nous décrirons successivement le dispositif de mesure proprement dit, l'exécution d'une mesure et enfin les limites de la numérisation.

B.1. - DISPOSITIF DE MESURE

Le principe de l'interféromètre de Rayleigh, les divers types de cellules de diffusion, la mesure semi-automatique des clichés d'interférence ont été décrits précédemment [0]. Cependant un certain nombre de modifications techniques ont été réalisées pour obtenir des clichés numériquement exploitables d'une part et augmenter la fiabilité de la méthode d'autre part.

B.1.1. BLOC CELLULE

Ce terme désigne la cellule de diffusion et l'ensemble des équipements qui lui sont directement attachés.

B.1.1.1. Cellule et débitmètres

Parmi les trois types de cellules étudiés ([0] p.10 à 13), le dispositif à écoulement laminaire latéral a été conservé [40] [41]. (Figure 1B). L'adjonction de débitmètres [42], équipés de robinet à pointeau, ainsi que celle d'électrovannes, facilitent la formation de la frontière. Enfin pour des raisons de manipulation et de réglage de l'optique, les réservoirs de liquide, les débitmètres et les électrovannes ont été séparés du portoir de la cellule (Figure 2B).

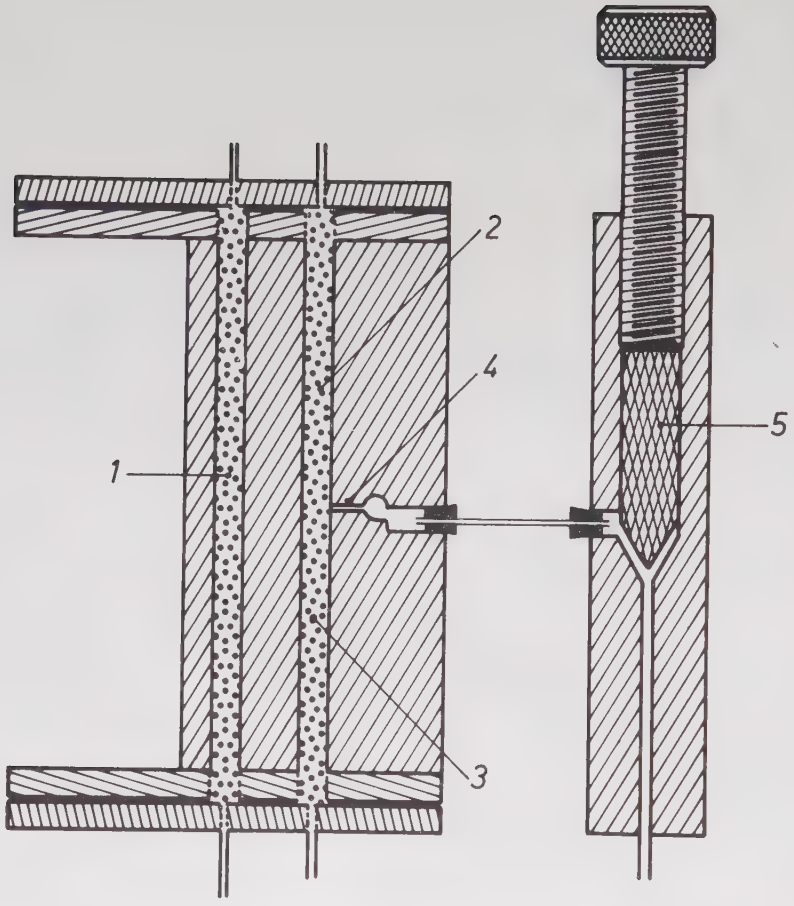


Figure 1B : Cellule à écoulement laminaire latéral.
1 Canal de référence:
2 Canal de diffusion: Solvant
3 Soluté
4 Fente d'écoulement:
5 Vis à pointeau pour régler le débit de l'écoulement :

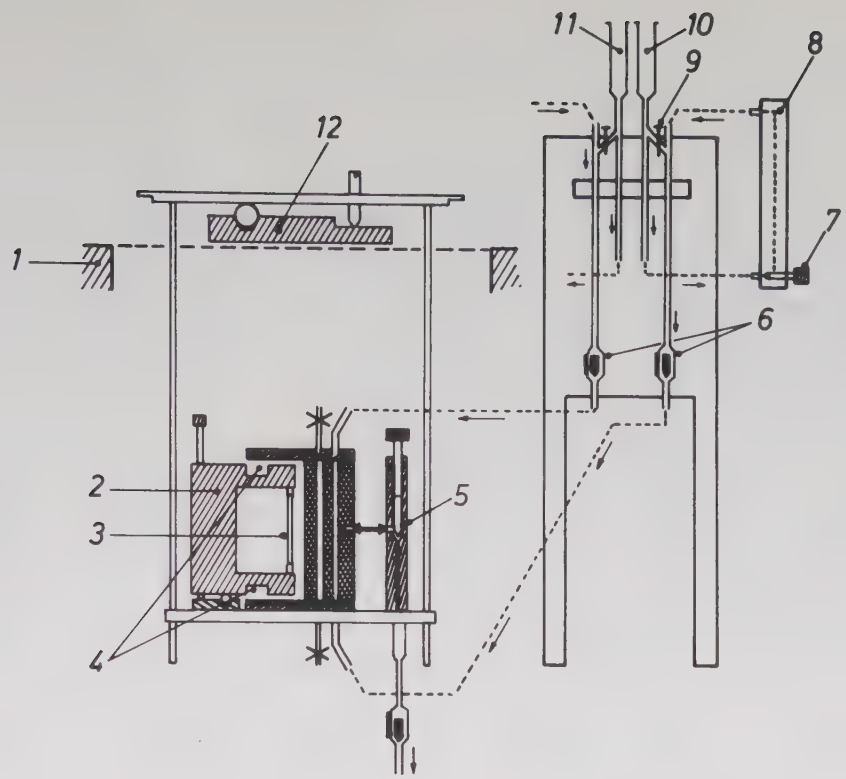


Figure 2B : Schéma du bloc cellule.

1 Support du bloc cellule
2 Support porte-lame (3)
3 Lame graduée pour la mesure du grandissement vertical
4 Orifices permettant l'enregistrement des franges autonomes
5 Vis à pointeau de réglage du débit de l'écoulement
6 Electrovannes
7 Vis à pointeau de réglage de débit à l'entrée
8 Débitmètre
9 Robinet de commutation, qui permet de courtcircuiter le débitmètre
10 Réservoir de soluté
11 Réservoir de solvant
12 Dispositif pour positionner le porte-cellule

B.1.1.2. Dispositif de mesure du grandissement

Il est nécessaire de connaitre le grandissement de l'interféromètre suivant l'axe vertical. Pour cela, nous avions proposé d'inclure dans les parties inférieure et supérieure du canal de référence une plaque de verre de faible épaisseur, sur laquelle était gravé un trait horizontal d'épaisseur 0.02 mm ([0] p.16). La position de ces plaques est très critique : elles doivent se situer au premier tiers de la cellule dans le sens de la lumière [43] [44] afin que les traits soient nets en même temps que les interférences. Pour pouvoir régler la position de la lame de verre par rapport à la cellule, cette dernière est maintenant placée à l'extérieur de la cellule (Figure 2B).

B.1.1.3. Stabilisation de la température

Au cours des premières expérimentations, l'ensemble du bloc cellule était immergé dans une cuve A , contenant de l'eau ; le dispositif, décrit sur la Figure 6B, permettait une stabilisation de la température à 1/100e de degré environ. La cellule de diffusion est une cellule en verre dont les différentes parties sont collées. Il s'est avéré qu'avec le temps, l'eau du thermostat finissait par s'introduire dans la cellule et détériorait cette dernière. L'eau a été remplacée par l'air. La capacité calorifique de celui-ci, nettement inférieure à celle de l'eau, diminue la qualité de la stabilisation de température (environ 1/10e de degré), tout en diminuant les risques de contamination par l'eau du bain (écart accru des pressions osmotiques). Une cellule soudée permettra de remettre en service la thermostatisation par eau.

B.1.1.4. Masque

Le masque utilisé (Figure 3B) permet de visualiser les traits de grandissement (fentes 7 et 8) d'une part et de former les franges autonomes (fentes 3,4,5,6) et le système principal de franges (fentes 1 et 2) d'autre part. Il faut rappeler que les franges autonomes sont constituées par des pinceaux lumineux qui passent à l'extérieur de la cellule de diffusion et sont destinées à définir la verticalité du système ([0]p.16). Le masque doit ainsi être rigoureusement aligné avec la cellule.

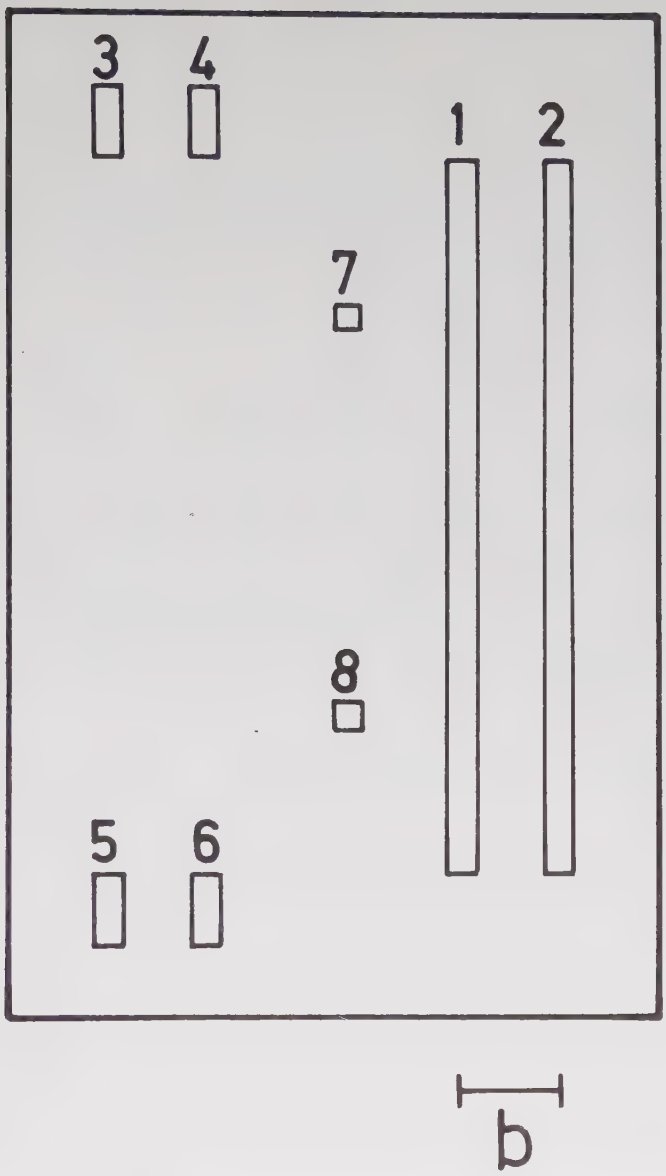


Figure 3B : Masque placé devant le porte cellule.

Positionnement des fentes:
1 et 2: canal de diffusion et de référence
7 et 8: traits horizontaux de la lame graduée
3 à 6: orifices correspondant à ceux du support porte-lame
b : distance interfente

B.1.2. OPTIQUE

La figure 4B rappelle le dispositif optique d'interférences de Rayleigh ([0] p.17). [45]

B.1.2.1. Réglage de l'optique

La précision des lectures dépend évidemment de la netteté des clichés obtenus et partant du réglage de l'optique. La cellule étant la seule partie du système à être fréquemment déplacée (nettoyage), il nous a semblé utile d'équiper le portoir de la cellule d'un dispositif de réglage qui permet de régler la cellule par rapport à l'optique. Ce dispositif est basé sur la méthode des trois points d'appui : déplacement suivant un axe et rotation autour d'un point du plan perpendiculaire à cet axe (Figure 5B). Il suffit de trois dispositifs de ce type pour atteindre n'importe quel point de l'espace. Ce système permet d'atteindre rapidement un réglage optique satisfaisant.

B.1.2.2. Source ; interfrange

L'interféromètre était équipé d'un réseau de fentes verticales équidistantes [46]. Or une étude minutieuse de l'interfrange a montré le caractère inadéquat de cette solution. D'après le principe de l'interféromètre de Rayleigh ([0] p.15), l'interfrange Ky est donnée par :

$$Ky = \lambda . d/b \qquad (B.1)$$

où λ est la longueur d'onde de la lumière (Na : 589.5 nm)
d distance des fentes à l'écran (Figure 1A)
b distance entre les fentes principales 1 et 2 (Figure 3B)

La fente verticale (Figure 1A) induit un système complet d'interférences. Seule la frange d'ordre zéro a été considérée alors qu'il existe une succession de franges brillantes d'ordre supérieur, dont l'intensité décroit régulièrement en s'éloignant de la frange centrale. C'était précisément pour éviter cet inhomogénéité que WIEDEMANN [46] a disposé un réseau de fentes verticales équidistantes à la place d'une seule fente verticale. La constante du réseau est

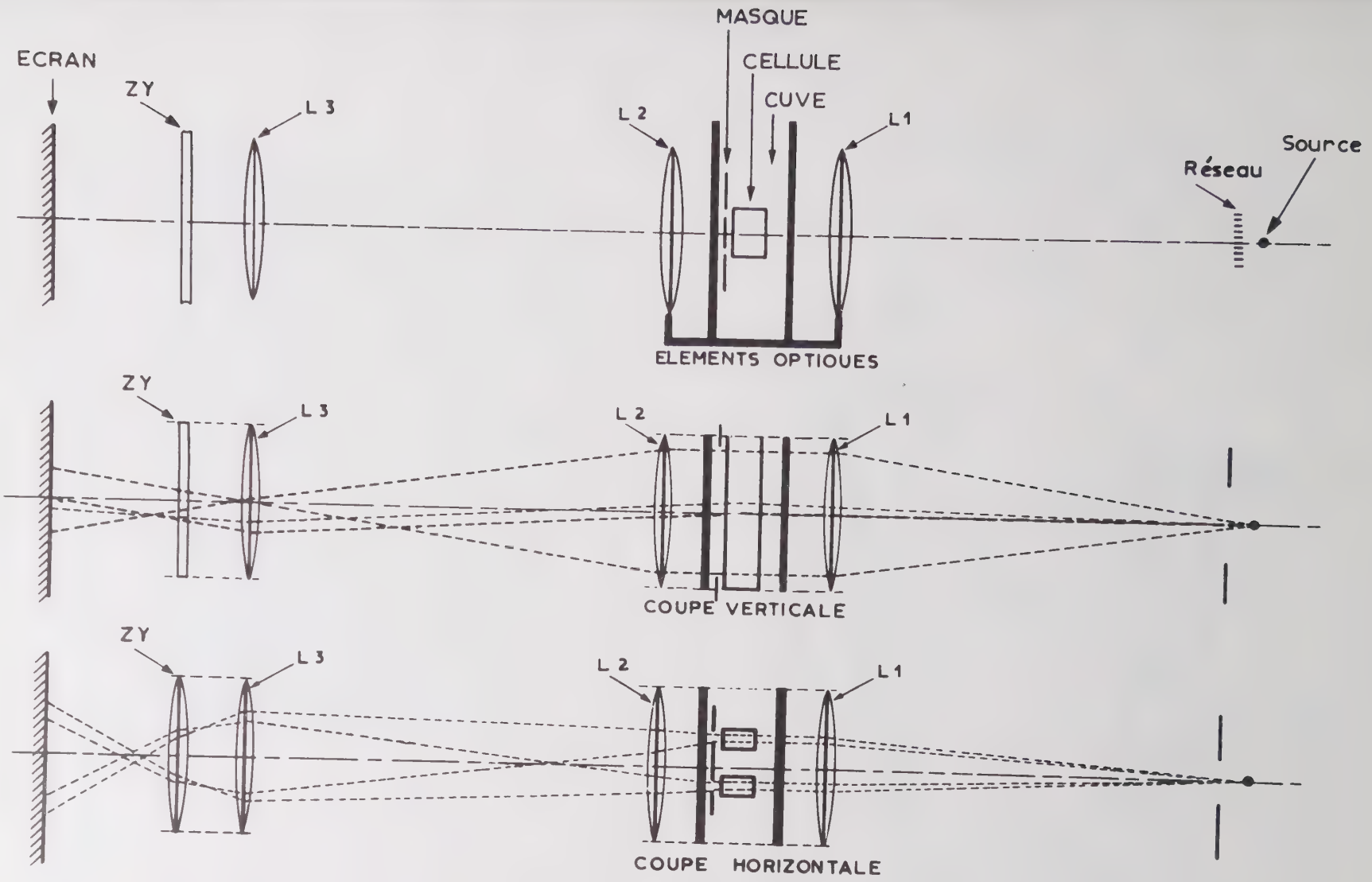


Figure 4B : Schéma optique de l'interféromètre de RAYLEIGH.

(Le réseau a été remplacé par une fente verticale. cf. B.1.2.2.)
L_1, L_2, L_3 lentilles shériques convergentes
ZY lentille cylindrique à axe vertical

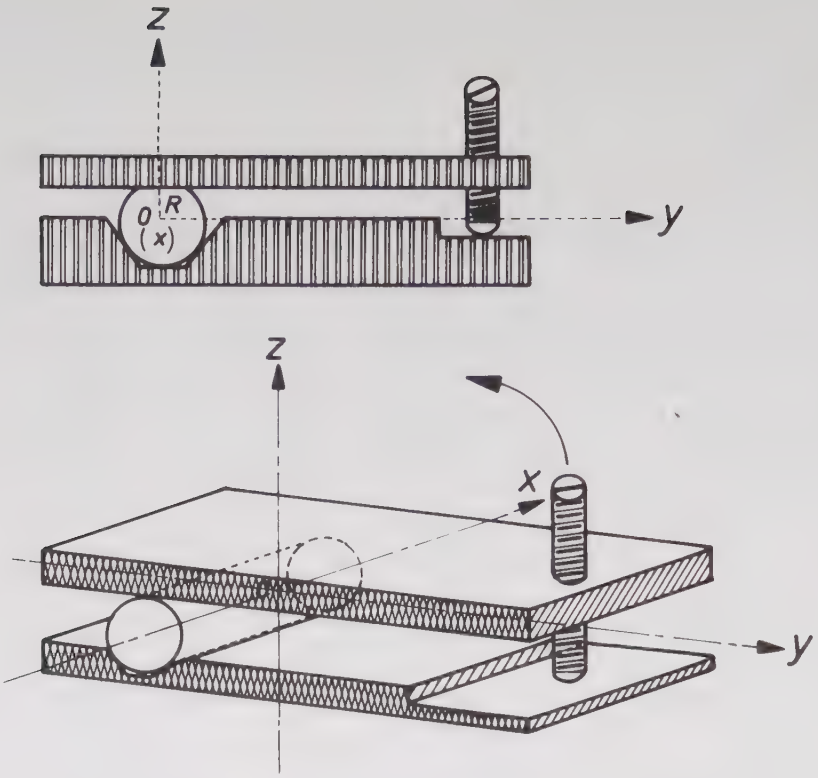
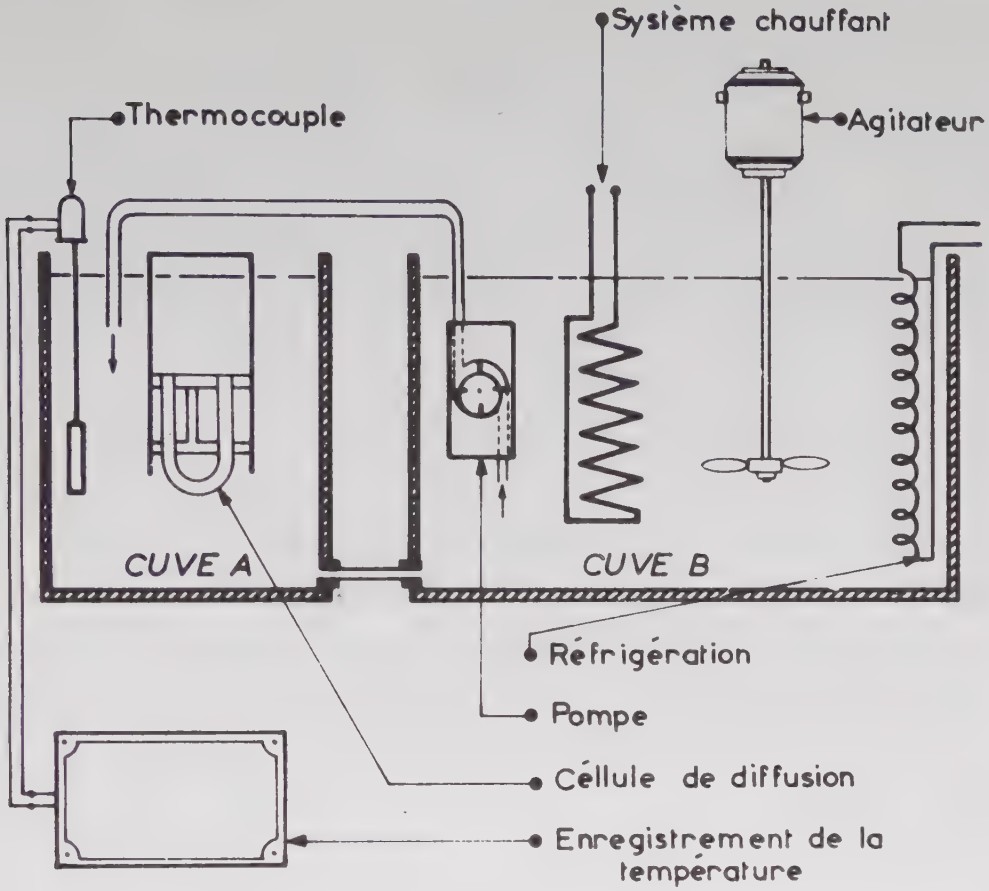


Figure 5B : Dispositif mécanique, lié au porte-cellule, permettant le positionnement de la cellule par rapport à l'optique.

DISPOSITIF DE STABILISATION DE LA TEMPERATURE



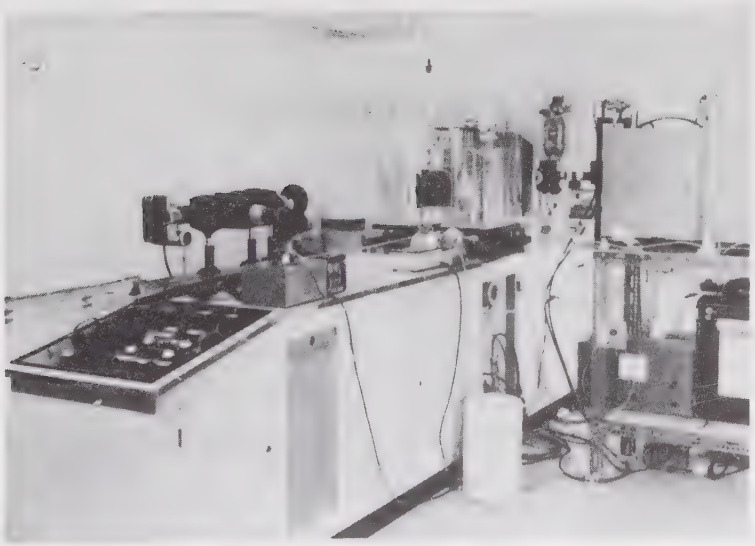


Figure 6B : Dispositif de stabilisation de la température en haut
Figure 7B : Vue d'ensemble de l'installation en bas.

telle que la frange brillante centrale d'ordre zéro, issue d'une des fentes du réseau source, recouvre exactement la frange brillante d'ordre un, issue de la fente adjacente à celle considérée. Dans le cas d'un réseau, la distance entre deux franges successives est donc caractéristique de la distance entre deux fentes verticales successives. Si le réseau était parfait, il y aurait bien coincidence entre l'interfrange et la constante du réseau. Cependant une étude statistique des distances entre franges successives pour diverses plages d'un cliché a montré que le réseau devait être remplacé par une source fente verticale unique (Figure 4B).

De plus, il convient de remarquer que la distance b entre les fentes principales 1 et 2 n'est pas rigoureusement constante. Pour des raisons propres à la fabrication de fentes larges de 2 mm dans une plaque de la même épaisseur, il faut admettre que la distance b est connue avec une précision de 1/10 mm. Ceci entraine, en tenant compte du grandissement de l'appareil, des fluctuations de l'ordre de $\pm 10^{-3}$mm sur l'interfrange Ky (B.1). Ainsi avec une fente verticale source, l'interfrange n'est pas rigoureusement constant le long de la cellule. Cependant la précision de lecture du cliché étant du même ordre de grandeur, l'interfrange sera considéré comme constant.

B.2. - ETUDE DE LA REPRODUCTIBILITE

La cellule de diffusion, malgré les soins apportés à sa construction, n'est pas exempte d'imperfections optiques (effets prismatiques d'épaisseur principalement), le dispositif optique d'interférométrie non plus. Par conséquent, si le canal de diffusion contient un liquide homogène, le système d'interférences obtenues n'est pas parfaitement linéaire. Le cliché, enregistré dans ce cas, est appelé "Photo de correction optique". Pour obtenir le vrai diagramme de diffusion, il faudra éliminer par le calcul la correction optique des enregistrements de diffusion.

B.2.1. SENSIBILITE DE L'INTERFEROMETRE

La précision des diagrammes d'interférence est limitée par la précision de mesure des clichés. Si on admet que cette dernière est de l'ordre de 10^{-3} mm, les plus petites variations mesurables d'indice de réfraction sont de l'ordre de 10^{-7} à 5.10^{-8} unités d'indice de réfraction. Par ailleurs on sait que l'indice de réfraction d'une solution est lié à la température par la relation (pour l'eau par exemple) :

$$n(T) = n_{20°} + 8.10^{-5} (T-20°) \qquad 14°C < T < 22°C$$

où T est la température mesurée en degrés Celsius

$n_{20°}$ est l'indice de réfraction pour T = 20°C

Il faut donc assurer une bonne homogénéité thermique des solutions contenues dans la cellule.

B.2.2. NETTOYAGE DE LA CELLULE

La relation entre l'indice de réfraction et la concentration est de l'ordre de 2.10^{-4} unités d'indice de réfraction par gramme et par litre pour les solutions aqueuses de protéines :

$$\frac{\partial n}{\partial c} \cong 0.2\ 10^{-3} \text{ U. d'indice.g}^{-1}.\text{l}^{-1}$$

Une variation de 5.10^{-4} $mg^{-1}.ml^{-1}$ peut donc être décelée. Pour éviter une variation locale de concentration, un nettoyage très minutieux de la cellule est nécessaire. Cette opération est d'ailleurs compliquée par le fait que les parties de la cellule assemblées par collage ne résistent pas à des traitements trop radicaux (acide sulfochromique ...)

B.2.3. PREPARATION DES PRODUITS

Tous les produits utilisés subissent une centrifugation "de dépoussiérage" (2h, 20 000 g), analogue à celle effectuée pour la préparation des produits en diffusion de la lumière. Un certain temps, pour atteindre la température ambiante, doit précéder le

remplissage de la cellule de diffusion. Enfin dans le cas de la correction optique, un cyclage du liquide pendant plusieurs heures à l'intérieur de la cellule est nécessaire pour homogénéiser tant en concentration qu'en température. Toutes ces précautions sont absolument nécessaires pour avoir la reproductibilité dans les manipulations. En plus, pour les protéines qui sont des molécules chargées et préparées dans des solutions tampons, il faut au préalable effectuer une ou deux dialyses successives pour éviter la diffusion parasite des ions constitutifs du tampon [47].

B.3. - ETUDE DE LA FRONTIERE

Pour satisfaire aux conditions initiales (A.1), la frontière doit être aussi fine et symétrique que possible.

B.3.1. ECOULEMENT LAMINAIRE LATERAL

Dans la construction de la cellule, la fente permettant l'écoulement laminaire latéral est prolongée par un conduit dont les dimensions sont nettement supérieures à celle de la fente (Figure 1B). Après divers essais, on a constaté que le conduit consécutif à la fente doit se situer à un niveau inférieur à celle-ci pour donner des résultats satisfaisants quant à l'affinement de la frontière. Le débit de la fente est commandé par un robinet à pointeau en téflon. Pour des raisons d'accès, ce robinet a été très éloigné du voisinage immédiat de la cellule. Or il est apparu que l'affinement n'est possible que si le robinet d'écoulement est voisin de la cellule. Aussi une position intermédiaire a été adoptée en définitive. Figure 1B.

B.3.2. REALISATION DE LA FRONTIERE

En dehors des précautions déjà mentionnées sur la température et la "propreté" des solutions étudiées, un protocole expérimental rigoureux doit être suivi pour réaliser la frontière. Initialement la cellule contient un liquide de référence homogène (eau le plus souvent) qui a permis d'obtenir la photo de correction optique.

- Remplissage par le soluté de la partie inférieure de la cellule (Figure 2B). Cette opération doit être exécutée avec lenteur. Le liquide de référence est chassé par la fente latérale par poussée gravitationnelle du soluté. Une certaine quantité (environ 10 ml) est nécessaire pour remplir la cellule (volume total de la cellule : 6 ml).
- Remplissage du solvant, c'est à dire de la partie supérieure de la cellule. Les mêmes précautions que précédemment sont à prendre.
- Equilibration des niveaux : la fente latérale est fermée et le niveau du solvant et celui du soluté doivent s'équilibrer. Les débitmètres sont shuntés (Voie rapide : Figure 2B) pour accélérer cette opération.
- Réglage des débits : les voies rapides, étant à nouveau fermées, le robinet de la fente largement ouvert, on procède à l'égalisation des débits. Les débitmètres sont gradués mais l'expérience montre que si l'un des débits est insuffisant, la formation de la frontière est défectueuse du côté correspondant. (Débit moyen : 0.1 ml/mn).
- Réglage de la fente : la largeur de la frontière est fonction du débit du liquide près de la fente latérale. Ce débit doit être suffisamment grand pour compenser la diffusion locale et suffisamment faible pour éviter des remous dans la zone frontière.
- Arrêt simultané de l'écoulement latéral, des débitmètres par l'intermédiaire des électrovannes et déclenchement du chronomètre.
- La prise des clichés est automatique. L'intervalle de temps entre deux enregistrements varie entre 1000 et 30000 secondes, suivant la vitesse du phénomène et son évolution (Figure 8B).

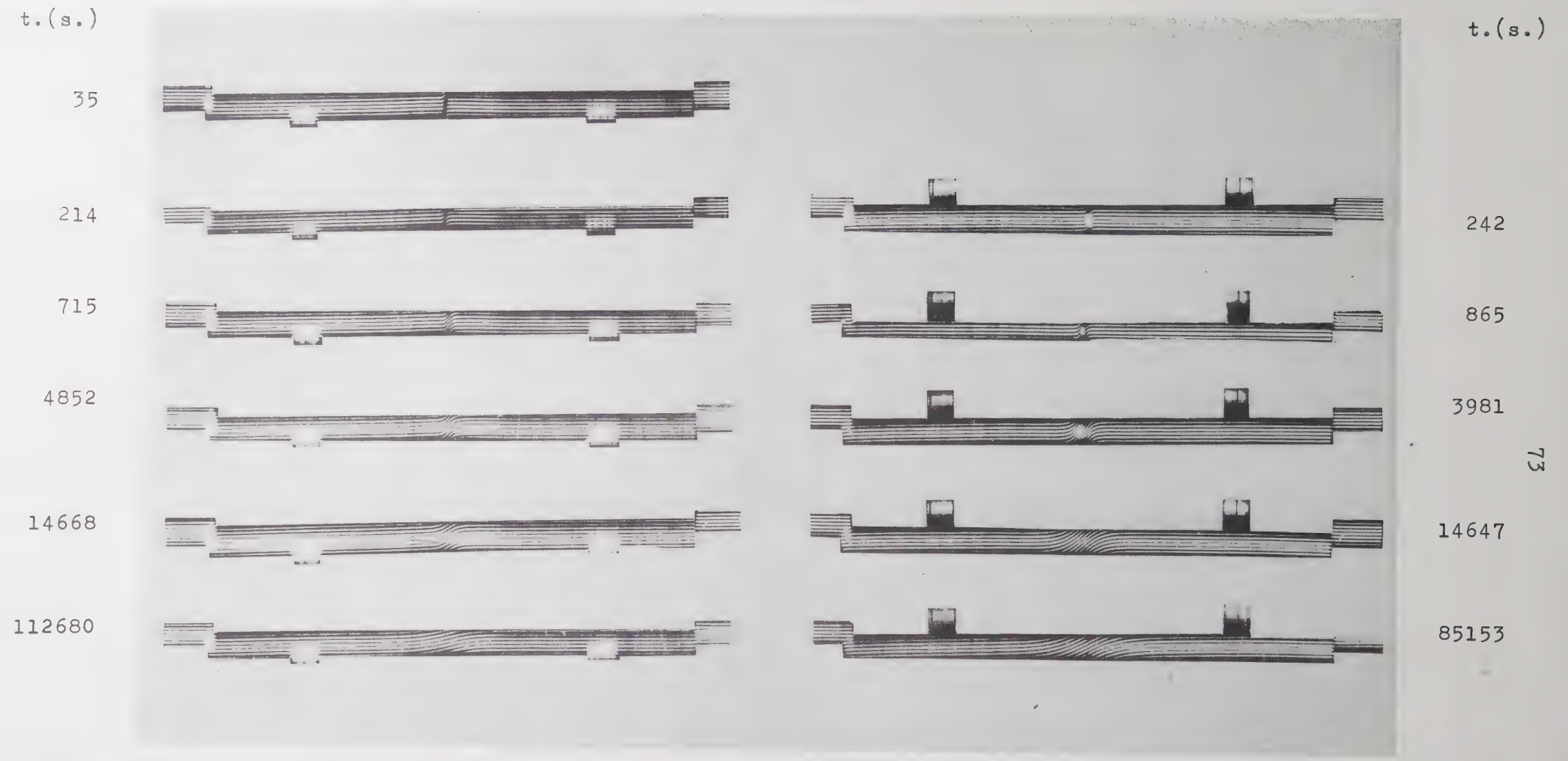


Figure 8B : Exemple de clichés de diffusion (cf. C.2.3.2.) .

Fibrinogène (Expérience A)
$D_A = 1.80\ 10^{-7} cm^2.sec^{-1}$

Protéines plastidiales (Expérience I_b)
$D_A = 3.57\ 10^{-7}\ cm^2.sec^{-1}$

B.4. - LECTURE DES CLICHES

B.4.1. MESURE DES CLICHES D'INTERFERENCE

Cette partie traite de l'aspect pratique de la mesure des clichés d'interférence. Le problème est de lire les coordonnées X et Y(X) d'un point pris sur une frange du diagramme de diffusion. La mesure de Y(X) permet de calculer j(X), terme qui lie les données expérimentales aux développements de la théorie de la diffusion de translation (Figure 8B). La précision de la méthode dépend de la précision obtenue sur X et Y(X) ; étant donné l'enjeu, nous nous sommes efforcés de mettre au point un système de lecture aussi précis que rapide. La base de ce système est constituée par un microscope microcomparateur d'atelier [48], auquel un dispositif d'enregistrement automatique des données et un mode de pointé précis ont été adjoints. (Figure 9B).

B.4.1.1. Microscope microcomparateur d'atelier

Cet appareil, conçu pour des études de mécanique fine, nous a semble particulièrement adapté à notre problème pour les raisons suivantes :

. L'objet sur lequel des distances doivent être mesurées est solidaire de la platine mobile. Les déplacements de celle-ci permettent d'obtenir les distances cherchées. Il s'agit donc d'une mesure directe de longueur. La précision est celle des vis micrométriques de la platine, soit un micron pour les deux axes.

. L'observation des points de repère des distances à mesurer est facilitée par un système microscopique classique de grandissement, avec visualisation sur chambre claire.

B.4.1.2. Mode de pointe

Le pointé se fait sur une frange brillante. Il consiste donc à rechercher le maximum d'intensité lumineuse transmise par le cliché d'interférence observé. Le seul critère utilisable est que l'interfrange Ky reste constant quelle que soit la valeur X choisie

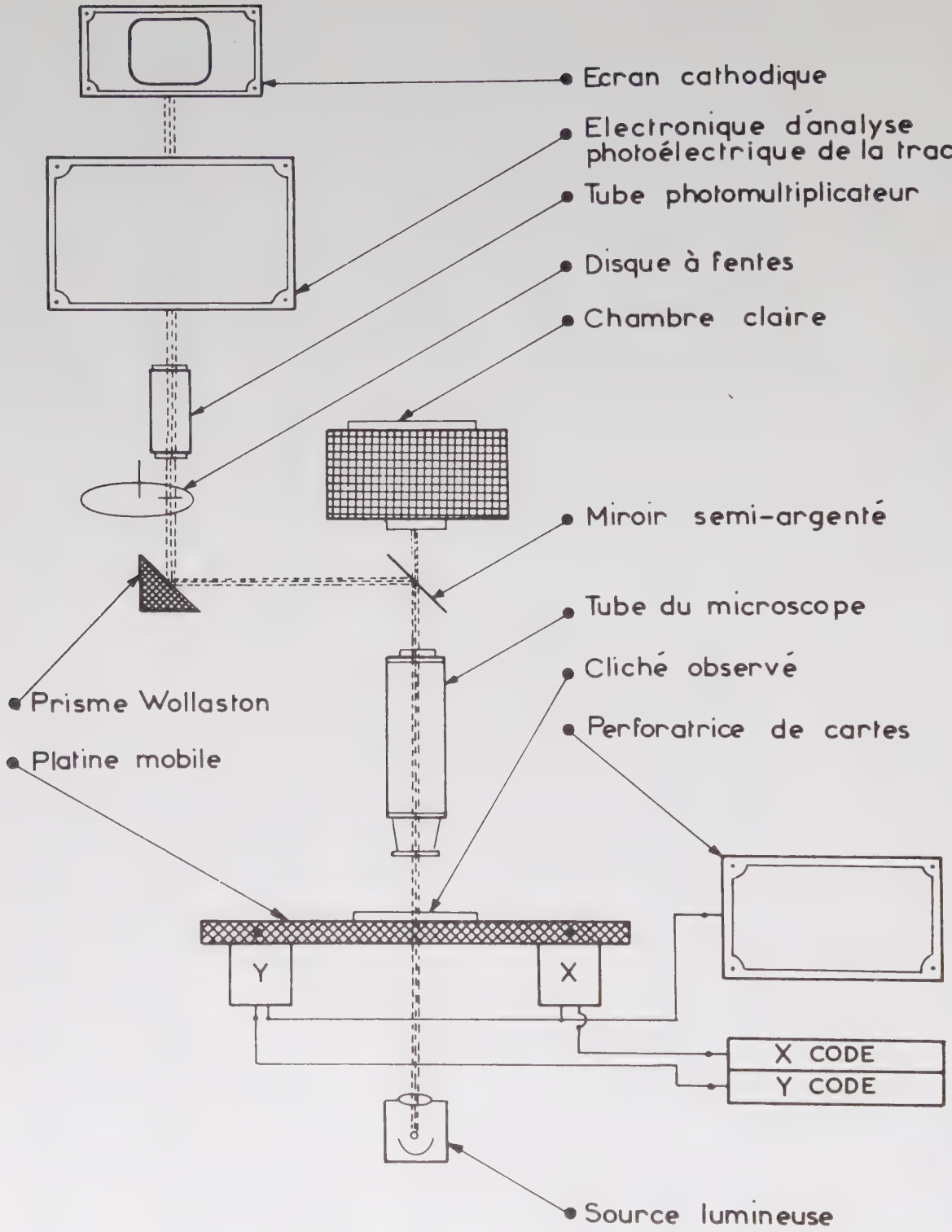


Schéma du système de lecture

Figure 9B : Schéma du système de lecture utilisé (cf. [0] et [18])

(Figure 8B). Cependant si on considère la zone centrale d'un cliché où se produit la plus grande variation relative d'indice de réfraction (dn/dx), la densité des franges complique l'analyse photoélectrique de la trace (Figure 8B). Le procédé suivant a été mis au point en fonction de cet impératif : une partie du faisceau lumineux, se dirigeant vers la chambre claire du microscope, est dissipée sur un prisme Wollaston, qui compense la variation relative d'indice de réfraction. Le faisceau lumineux reçu est découpé par un système de disques à fentes, qui est équivalent à un système de fentes oscillantes balayant la trace. Ce système permet, par l'intermédiaire d'un tube photomultiplicateur et d'une électronique adaptée, de reconstituer la variation de densité optique de la trace observée. Cette variation, enregistrée sur l'écran d'un oscillographe cathodique, permet à l'opérateur de localiser le maximum de brillance de la frange. (Figure 9B).

B.4.1.3. Enregistrement automatique des données

Les commandes des vis micrométriques de la platine ont été couplées par l'intermédiaire de moteurs pas à pas à des codeurs mécaniques. Les valeurs codées obtenues sont enregistrées sur carte perforée et en même temps visualisées par des procédés classiques. Le mouvement de la platine suivant l'axe des x se fait par pas variable de 5, 10, 50 ou 100 microns. Le pointé correct sur un maximum d'intensité lumineux ou frange brillante est assuré par un déplacement manuel en Y . Un dispositif permet alors la perforation des valeurs lues (X,Y). La fidélité des valeurs codées a été contrôlée en utilisant les valeurs lues aux verniers du microscope : elle est totale.

B.4.2. PRECISION DU POINTE. ALIGNEMENT DES CLICHES

La précision des résultats dépend aussi bien de la précision des pointés que de l'alignement des clichés les uns par rapport aux autres.

B.4.2.1. Précision des pointés.

Suivant le contraste du cliché au point considéré et l'acuité visuelle de l'observateur, le dispositif de lecture utilisé permet de pointer avec une précision de $\pm 10^{-3}$mm. Pour éviter une erreur de lecture, chaque position est mesurée deux fois consécutivement ; la valeur retenue est la moyenne des deux valeurs enregistrées.

B.4.2.2. Alignement des clichés

B.4.2.2.1. Alignement d'un cliché et reproductibilité de la lecture

B.4.2.2.1.1. Alignement par les franges autonomes

Les franges autonomes permettent de déterminer l'axe vertical de la cellule et de faire coincider plus ou moins bien cet axe avec l'un des axes de la platine du microscope. Chaque section des franges autonomes est de 3 mm (fentes 3,4,5,6 du masque. Figure 3B). La distance entre les deux sections est de 25 mm environ: les couples de fentes (3,4) et (5,6) ont été éloignés le plus possible. Théoriquement la pente sera donc déterminée avec une précision de $\pm 4.10^{-5}$. En réalité les franges autonomes ne sont pas parfaitement rectilignes (défauts de l'optique et du masque), la comparaison des mesures successives du même cliché montre que la précision réelle d'alignement par les franges autonomes est de l'ordre de 5.10^{-4}. Sur la figure (10B), la zone hachurée A montre les fluctuations obtenues pour des mesures successives du même cliché (photo de correction optique). La statistique des écarts correspond à $\pm 4.10^{-3}$mm.

B.4.2.2.1.2. Alignement par minimalisation des écarts

Etant donné les variations constatées dans les résultats après avoir aligné le cliché par les franges autonomes, il semble nécessaire de procéder à un nouvel alignement des clichés les uns par rapport aux autres. Pour étudier ce procédé, la pente des différences d'ordonnées entre deux lectures successives d'un même cliché en fonction de l'abscisse est déterminée par une régression linéaire.

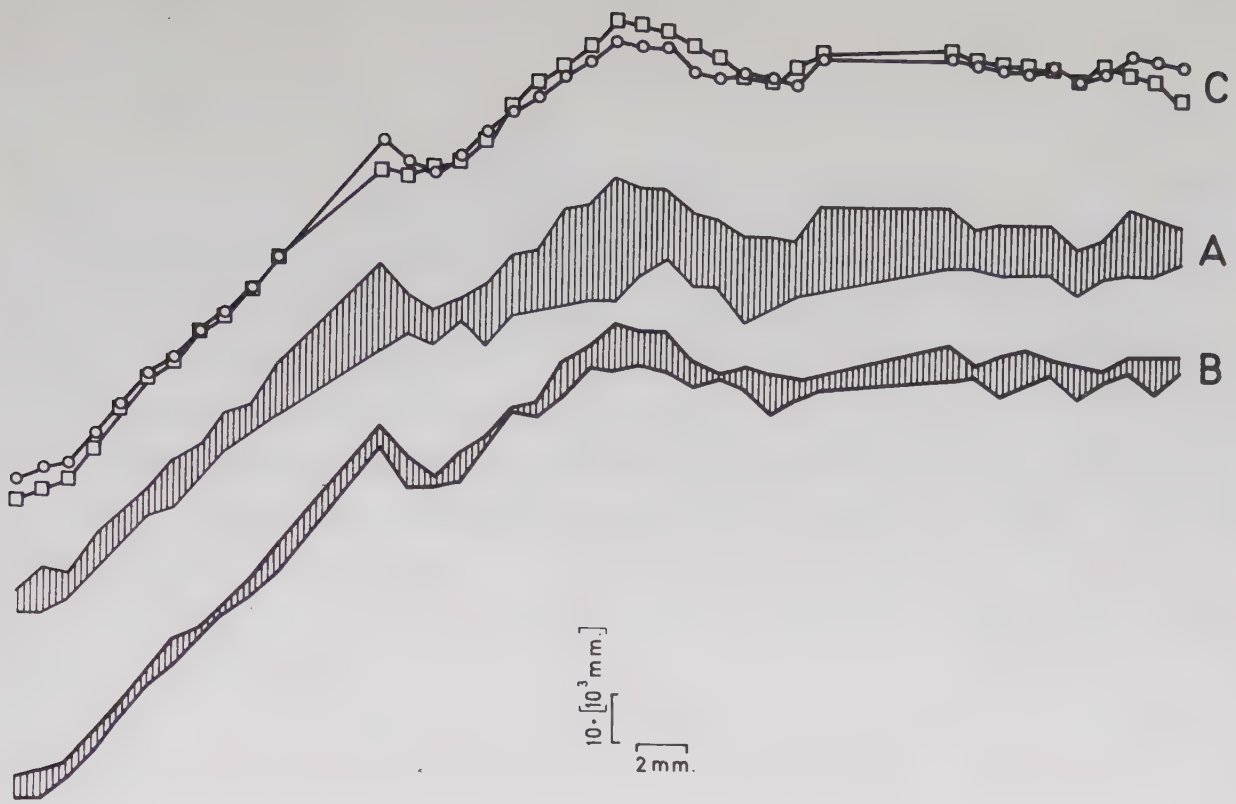


Figure 10B : Etude de l'alignement des clichés et de la reproductibilité de la correction optique. (cf. B.4.2.2.1.)

o Eau distillée . ▫ Saccharose 4 °/₀₀

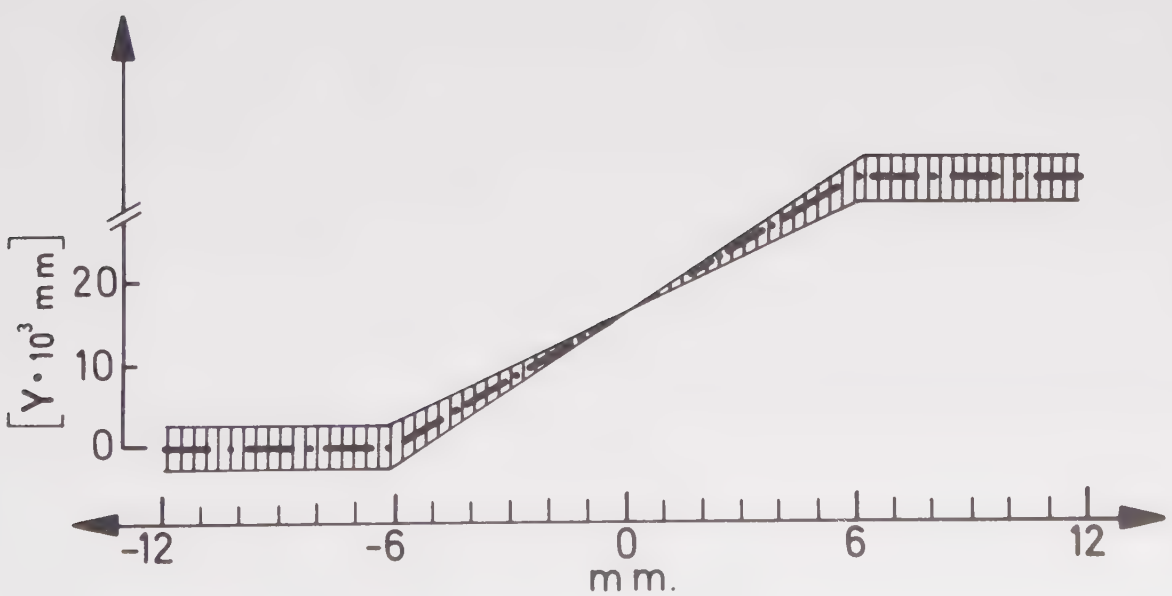


Figure 11B : Etude de l'alignement et de la reproductibilité de la déviation maximale de longueur d'onde. (cf. B.4.2.2.2.)

Cette pente permet de définir une rotation fictive du cliché par rapport à un autre considéré comme référence. La zone hachurée B de la figure (10B) montre que les fluctuations observées pour des lectures successives d'un même cliché sont réduites par rapport au cas précédent. La statistique des écarts donne alors $\pm$ 2.10^{-3}mm. La Figure (10B) montre le recouvrement d'un cliché de correction optique fait avec l'eau comme liquide de référence puis avec du saccharose (4°/$_{oo}$). Enfin, il faut noter l'importance des imperfections optiques, constatées sur le cliché de correction optique.

B.4.2.2.2. Alignement d'un cliché par rapport à un autre

Connaissant la précision du pointé et celle de l'alignement d'un cliché par les franges autonomes, il faut étudier l'alignement du cliché de correction optique par rapport aux clichés de diffusion. Dans ce cas, par suite de la diffusion au centre du cliché de diffusion, il faut ranger les écarts en deux groupes : côté solvant et côté soluté. La précision obtenue sur les pentes est alors inférieure à celle du cas précédent, la variation d'abscisse étant environ quatre fois plus faible (environ 6 mm). L'expérience montre qu'il faut au moint admettre une fluctuation de l'ordre de $\pm$ 3.10^{-3} mm aux extrémités de la courbe. La figure (11B) schématise le résultat obtenu. Après soustraction de la correction optique, la courbe de diffusion doit présenter deux plateaux (traits -.-.). Les points expérimentaux sont situés dans la zone hachurée. La déviation maximale J , différence entre les deux plateaux, est mesurée à une précision de $\pm$ 6.10^{-3} mm, soit en divisant par l'interfrange $\pm$ 0.04 franges.

Pour un cliché donné : t = 171 300 secondes (fibrinogène)

Lecture A : J = 3.98
Lecture B : J = 3.91
Lecture C : J = 3.93

Ces mesures ont été effectuées à plusieurs jours d'intervalle. La température de la pièce dans laquelle se trouve le microscope microcomparateur varie entre 20 et 22°C. Ces observations nous poussent à relier les variations constatées de J au cours de la diffusion à une imprécision de lecture (phénomène aléatoire) plutôt qu'à des phénomènes de convection ou d'absorption des gaz.

CONCLUSION

Le protocole de formation de la frontière et la numérisation des clichés d'interférence sont maintenant au point. Il faut mettre l'accent sur les précautions à prendre dans la préparation des produits, dans le réglage de l'optique, dans la réalisation de la frontière afin d'obtenir la reproductibilité des mesures. Les difficultés rencontrées sont en relation directe avec la grande sensibilité de la technique utilisée. De plus, si la numérisation marque un progrés sensible dans l'exploitation des clichés de diffusion, il faut en souligner les limites. Comme nous l'avons vu, l'alignement des clichés est un facteur limitant la précision des résultats obtenus.

C. ASPECT EXPERIMENTAL .

C.1. - TRAITEMENT NUMERIQUE DES DONNEES

C.1.1. GENERALITES

C.1.1.1. Moyens de calcul

Tous les programmes utilisés dans ce travail sont écrits en FORTRAN IV B et peuvent être traités par les ordinateurs dont dispose le département de calcul électronique du C.E.A. Saclay : CDC 6600, IBM 360/75, IBM 360/90, CAE 10020. Pour des raisons pratiques, la presque totalité des programmes est exécutée à partir d'un terminal du CDC 6600. L'utilisation d'un terminal impose des conditions de mémoire, d'entrée, de sortie et de temps afin de conserver une priorité raisonnable de passage. Ainsi l'ensemble a été séparé en trois blocs, ceux-ci, une fois mis au point, sont stockés sur une bande magnétique, les données numériques issues de chaque étape le sont également.

C.1.1.2. Agencement du programme

Dans le traitement numérique d'une expérience de diffusion, trois étapes ont été distinguées et désignées de la façon suivante :

. Etape 1 ou bloc UTINAM : ne considère qu'un seul cliché. Cette étape permet de transcrire en chiffres réels les données, issues de la lecture au microscope microcomparateur, d'éliminer les séquelles de la lecture (alignement du cliché) et celles de l'enregistrement photographique (grandissement).

. Etape 2 ou bloc DUX : traite l'ensemble des clichés d'une même expérience de diffusion et permet d'obtenir le coefficient de diffusion moyen D_A et l'erreur sur le temps Δt .

. Etape 3 ou bloc EXEMPLAR : calcule les valeurs moyennes des coefficients de diffusion, les fonctions de déviation $\omega(\varsigma)$ et $\Omega(\varsigma)$ et aborde l'étude de la polydispersité de la solution étudiée.

Chaque étape comporte un certain nombre de segments désignés dans l'ordre par la suite alphabétique (A, B, C, ...). Le plus souvent un chiffre suit la lettre pour indiquer à quelle étape appartient le segment (par exemple A2 : premier segment de l'étape 2). Enfin pour faciliter la compréhension des programmes, le langage symbolique employé correspond en général phonétiquement au langage mathématique employé (exemple : Δt = DELTAT, J_0^2 = JZERO2, ...). Un mode d'emploi de ce programme a été écrit sous une forme détaillée [49].

C.1.1.3. Sous-programmes particuliers

C.1.1.3.1. Sous-programmes "Routines"

La répétition d'un certain nombre d'opérations élémentaires au cours de l'exécution du programme nous a poussé à écrire un certain nombre de routines. Elles sont notées par le chiffre 3 soit :

- A3 : Droite des moindres carrés
- B3 : Statistique d'un ensemble de valeurs
- C3 : Classification en ordre d'abscisses croissantes d'un ensemble de valeurs (X,Y)
- D3 : Rotation d'un ensemble de valeurs (X,Y) autour d'un point dont les coordonnées sont connues
- E3 : Initialisation des valeurs de l'ensemble (X,Y)
- F3 : Soustraction de deux courbes
- H3 : Recherche de la valeur maximale dans un ensemble de valeurs
- I3 : Transcription des valeurs codées en valeurs réelles pour les couples (X,Y), lus par le microscope microcomparateur

Des tests, permettant de relever des anomalies (exemple : un nombre trop faible de valeurs pour effectuer une statistique dans B3), ont été insérés dans ces routines.

C.1.1.3.2. Sous-programmes bibliothèques

Le département de calcul du Commissariat à l'Energie Atomique (Saclay) met à la disposition des utilisateurs un grand nombre de sous-programmes mathématiques et graphiques. Certains sous-programmes sont utilisés avec leur spécification propre d'appel.

Nous nous contenterons de noter la méthode de calcul employée sans entrer dans le détail du fonctionnement de ces sous-programmes.

C.1.1.3.3. Procédures d'"entrées et sorties"

Les procédures d'entrée doivent permettre l'acquisition rapide des constantes nécessaires au calcul et celle des données. Lors de la lecture d'une photographie, une carte de spécification est perforée pour cette photographie et pour la lecture correspondante :

	Numéro du cliché	Nom du lecteur	Date de la lecture
Exemple :	71/3/13/21	LANGOUET ...	24/3/71

Ce cliché appartient à une expérience effectuée le 13/3/71 . Cette carte de spécification suffit dans la suite des blocs pour appeler toutes les données enregistrées lors des diverses étapes, concernant le cliché.

Les procédures de sortie doivent permettre de conserver l'ensemble des résultats sur bande magnétique et d'obtenir l'ensemble des informations dans un nombre minimal de lignes. Un effort particulier a été fait sur ce point afin d'éviter l'accumulation d'un nombre impressionnant de documents.

C.1.2. ETAPE 1 : BLOC UTINAM

C.1.2.1. Lecture d'un cliché

Les valeurs lues point par point au microscope sont enregistrées en chiffres codés sur carte perforée. Le premier caractère de la carte perforée est une lettre qui indique à quelle partie de la photographie appartiennent les six couples (X,Y) enregistrés sur la carte. La figure 1C représente schématiquement un cliché de diffusion. L'ordre dans lequel est pratiquée la lecture est le suivant : (Figure 1C).

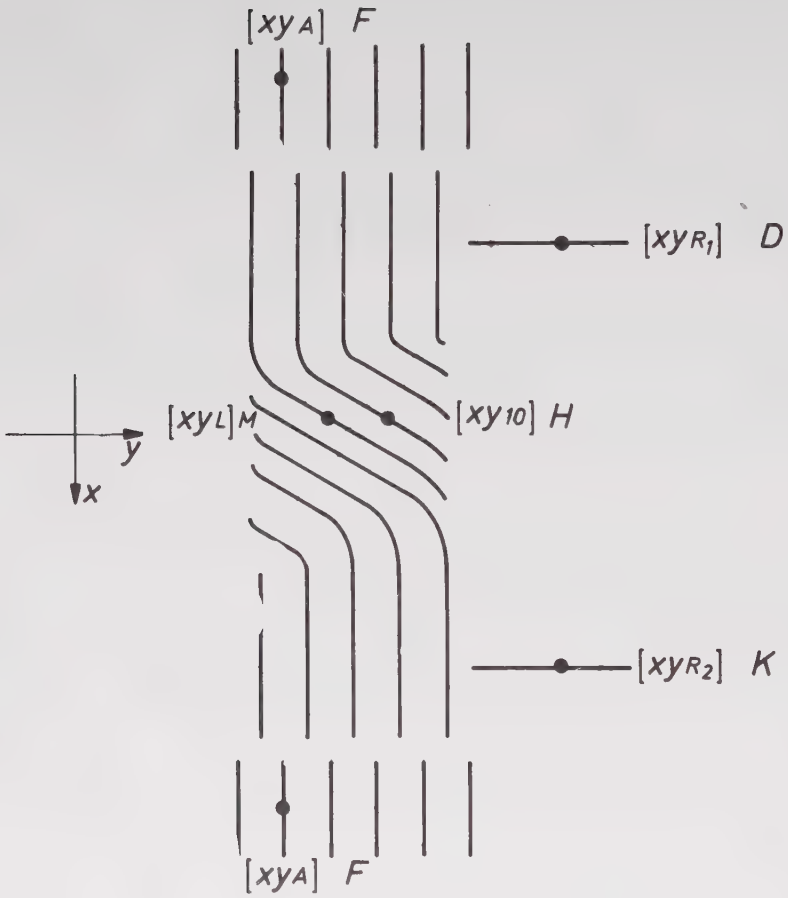


Figure 1C : Schéma d'un cliché de diffusion.
(cf. C.1.2.1.)

. Les groupes de points (XYA)(ou franges autonomes) définissent l'alignement du cliché suivant l'axe X (lettre F).

. La lecture des droites (XYR1) et (XYR2) permet d'obtenir la distance entre celles-ci : elles sont formées par les deux traits, portés par une lame de verre, placée à l'extérieur de la cellule (B.1.1.2.). Cette distance, appelée GRANDI , permet de calculer le grandissement vertical CMX [Mx] de l'interféromètre (lettres D et K).

. La lecture des points XYL pour une trace complète permet d'obtenir le déplacement horizontal Y(X) qui nous intéresse. Il faut noter que la lecture d'une autre trace XYL10 , distante de plusieurs fois l'interfrange, permet le calcul de l'interfrange CKY [Ky] (lettres M et H).

C.1.2.2. Correction des données

La figure 2C montre l'organigramme du bloc UTINAM.

C.1.2.2.1. Transformation des données codées en données réelles (segment A1)

En tenant compte de la course micrométrique du micro-comparateur, on divise le cliché en un certain nombre de plages fictives dont les dimensions sont les suivantes :

8 000 unités de code pour les 2 axes X et Y
8 000 microns pour les 2 axes X et Y

Pour n'importe quelle valeur réelle du couple (X,Y), les valeurs codées correspondantes peuvent être enregistrées. Ainsi, au début d'une plage, un couple de chiffres réels et le couple de chiffres codés correspondant sont imprimés sur la carte perforée. Ceci établit une correspondance biunivoque entre les couples de valeurs codées et ceux de valeurs réelles.

L'ordinateur traite alors les cartes de la manière suivante : le premier couple rencontré est un couple réel, le couple suivant étant son correspondant codé. Le prochain couple réel rencontré marquera la fin de la plage. Aussitôt l'ordinateur convertira en

Bloc UTINAM

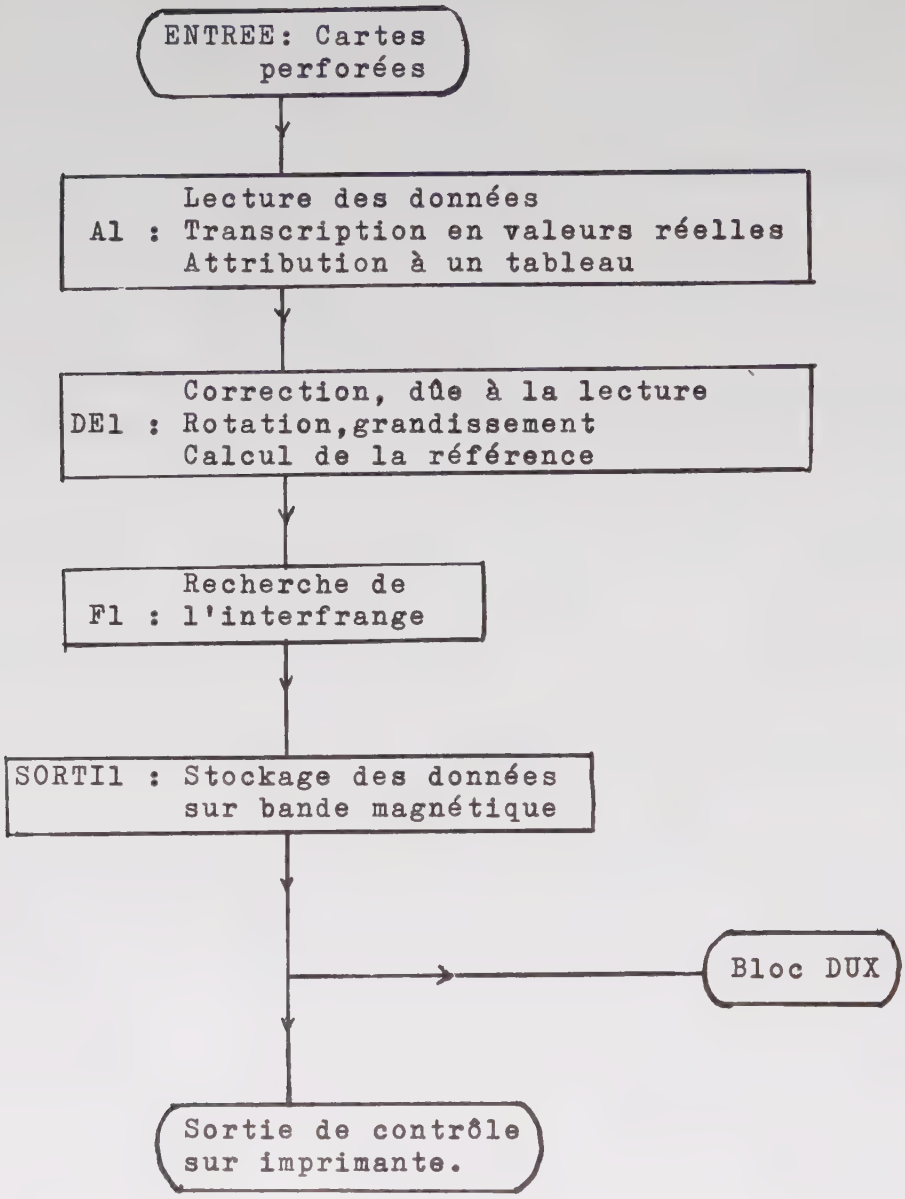


Figure 2C .

valeurs réelles les couples codés compris entre les deux couples réels rencontrés et attribuera ces valeurs au tableau défini par le premier caractère de la carte perforée.

De plus, il faut noter que des signes particuliers, enregistrés manuellement sur la carte perforée, permettent d'annuler des couples codés dont l'enregistrement aurait été prématuré à la suite d'une fausse manoeuvre de l'opérateur.

C.1.2.2.2. Correction, dûe à la lecture (segment DE1)

Il a déjà été signalé que l'opérateur ne prenait pas de précaution particulière pour faire coïncider l'axe X du cliché et celui du microcomparateur. Aussi la mesure des valeurs (XYA) permet de définir l'axe X du cliché. Une rotation permet d'obtenir la coïncidence cherchée : tous les couples (X,Y) mesurés quelle que soit leur appartenance subissent cette rotation.

La différence des abscisses entre XYR2 et XYR1 permet d'obtenir la distance GRANDI et partant de calculer le grandissement CMX. La moyenne arithmétique de ces mêmes abscisses est considérée comme le point de référence des abscisses. Ces deux opérations éliminent le problème du grandissement et celui de la référence.

C.1.2.2.3. Calcul de l'interfrange (segment F1)

L'interfrange CKy est obtenu par la différence d'ordonnées entre deux traces successives, lues sur un même cliché. L'étude des valeurs de l'interfrange a déjà été faite (B.1.2.2.). Le sous-programme B3 permet de faire la statistique des valeurs de l'interfrange obtenues le long de l'axe X .

C.1.2.2.4. Sortie et gestion de bande

Comme le montre la figure 3C, l'ensemble des résultats traités dans cette première étape est imprimé sur deux feuilles : numéro du cliché, temps, grandissement, référence, franges autonomes, ensemble des valeurs (X,Y). Un tracé graphique global et approximatif (sous-programme D.C.E. RCRBGB) permet de déceler les erreurs éventuelles dans la lecture de la photographie.

NUMERO= 71/3/13/21 LANGOUET 24/3/71 TEMPS=50807 YA= 159.806 XOR= 76.549 D C E SACLAY
UTINAM H52059+H52060

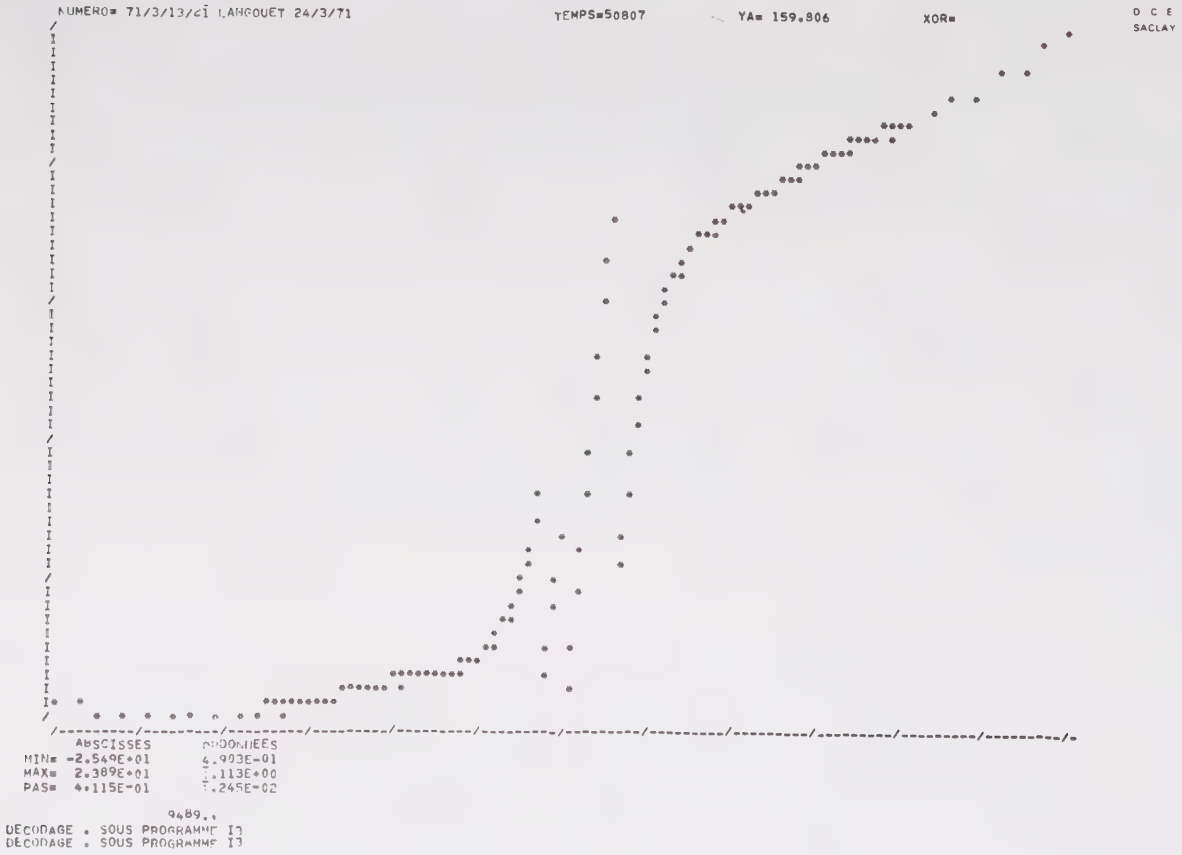
YR1 69.3674 158.8039 XYR2 83.7404 158.8016 GRANDISSEMENT .4497

XYA1

62.7145 159.8059	63.7615 159.8062	64.9275 159.8056	88.1215 159.8059	89.2145 159.8083
62.9885 159.8084	64.0365 159.8057	65.0345 159.8060	88.3925 159.8074	
63.2235 159.8088	64.3955 159.8041	87.5815 159.8030	88.6615 159.8088	
63.4925 159.8063	64.6635 159.8061	87.8445 159.8045	88.9485 159.8063	

XYL

-25.4949	.5062	-10.1205	.5186	-3.0203	.5971	4.3179	.8746	11.4359	.9931
-24.3520	.4981	-9.8981	.5151	-2.7979	.6121	4.5403	.8851	11.6605	.9936
-23.2401	.4961	-9.6758	.5186	-2.5756	.6256	4.7626	.8946	11.8806	.9966
-22.1283	.4935	-9.4534	.5191	-2.3532	.6441	4.9850	.9016	12.1030	.9986
-21.0165	.4929	-9.2310	.5226	-2.1308	.6671	5.2074	.9091	12.3254	.9966
-19.9046	.4903	-9.0087	.5226	-1.9084	.6861	5.4298	.9160	12.5477	.9980
-18.7928	.4932	-8.7863	.5210	-1.6861	.5335	5.6521	.9205	12.7701	1.0030
-17.6810	.4937	-8.5639	.5235	-1.4637	.5580	5.8745	.9250	12.9925	1.0065
-16.5691	.4946	-8.3416	.5250	-1.2414	.5905	6.0969	.9285	13.2148	1.0080
-15.4573	.4960	-8.1192	.5250	-1.0190	.6195	6.3192	.9295	13.4372	1.0100
-15.2349	.4990	-7.8968	.5250	-.7966	.6555	6.5416	.9305	13.6596	1.0130
-15.0126	.4980	-7.6787	.5300	-.5743	.5195	6.7640	.9344	13.8819	1.0164
-14.7902	.4970	-7.6767	.5290	-.3519	.5539	6.9863	.9389	14.1043	1.0159
-14.5678	.4960	-7.4677	.5300	-.1295	.6004	7.2087	.9419	14.3267	1.0164
-14.3455	.4984	-7.2453	.5284	.0929	.6369	7.4311	.9459	14.5490	1.0184
-14.1231	.5009	-7.0229	.5299	.3152	.6844	7.6534	.9459	14.7714	1.0204
-13.9007	.5024	-6.8006	.5319	.5376	.7314	7.8758	.9524	14.9938	1.0199
-13.6784	.5034	-6.5782	.5294	.7600	.7744	8.0982	.9569	15.2161	1.0194
-13.4560	.5029	-6.3558	.5314	.9824	.8119	8.3205	.9558	15.4385	1.0228
-13.2336	.5054	-6.1334	.5329	1.2048	.8578	8.5429	.9578	15.6609	1.0263
-13.0113	.5058	-5.9111	.5333	1.4271	.9008	8.7653	.9608	15.8832	1.0278
-12.7889	.5078	-5.6887	.5363	1.6495	.9403	8.9876	.9673	16.1056	1.0273
-12.5665	.5068	-5.4663	.5368	1.8718	.6243	9.2100	.9653	17.2175	1.0352
-12.3442	.5083	-5.2440	.5393	2.0942	.6578	9.4324	.9658	18.3293	1.0461
-12.1218	.5078	-5.0216	.5418	2.3165	.6913	9.6547	.9677	19.4411	1.0566
-11.8994	.5088	-4.7992	.5463	2.5389	.7262	9.8771	.9727	20.5530	1.0695
-11.6771	.5097	-4.5769	.5492	2.7613	.7512	10.0973	.9792	21.6648	1.0809
-11.4547	.5117	-4.3545	.5537	2.9837	.7772	10.0995	.9757	22.7766	1.0973
-11.2323	.5122	-4.1321	.5562	3.2060	.7962	10.3241	.9792	23.8885	1.1127
-11.0100	.5157	-3.9098	.5652	3.4284	.8172	10.5464	.9807		
-10.7876	.5132	-3.6874	.5717	3.6508	.8362	10.7688	.9832		
-10.5652	.5157	-3.4650	.5767	3.8732	.8527	10.9912	.9841		
-10.3429	.5142	-3.2427	.5877	4.0955	.8656	11.2135	.9876		



9489..
DECODAGE . SOUS PROGRAMME I3
DECODAGE . SOUS PROGRAMME I3

Figure 3C : Sortie sur imprimante du bloc UTINAM

Les valeurs à stocker sur la bande magnétique "données" en vue de l'étape suivante y sont inscrites de la façon suivante :

Nombre de Mots : quantité que nous définirons plus bas NWØRD

Spécification du cliché : 5 mots de 10 caractères

Temps : TEMPS (1 Mot)

Ordonnée de référence des franges autonomes : ØRDØRI (1 Mot)

Référence des abscisses : XØR (1 Mot)

Nombre de valeurs (X,Y) : KL (1 Mot)

Valeurs (X,Y) : XYL (2KL Mots)

La notion de "Mot" sur bande magnétique se confond ici avec celle de données élémentaires. Le nombre de mots est donc égal à :

NWØRD = 5 + 5 + 2KL

On voit donc que la spécification permet de rechercher le cliché et le nombre de mots NWORD permet de compter le nombre de données qui s'y rattache. Ainsi les clichés au fur et à mesure de leur traitement sont enregistrés les uns derrière les autres sur la bande magnétique. Cette gestion de la bande permet d'éviter le dénombrement et le classement des clichés sur la bande.

C.1.3. ETAPE 2 : BLOC DUX

L'organigramme de cette étape est décrit sur la figure 4C. Donnons en le détail :

C.1.3.1. Entrée (segment ENTRE2)

Il suffit de lire la carte de spécification d'un cliché pour que l'ordinateur retrouve sur la bande magnétique "données" toutes les caractéristiques du cliché. Dans cette étape, il faudra soustraire le cliché de correction optique (B.2.) des clichés de diffusion. La première carte de spécification proposée est donc celle d'un cliché de correction optique ; les valeurs (X,Y) seront attribuées à un tableau XYCO et conservées par tous les clichés suivants.

Bloc DUX

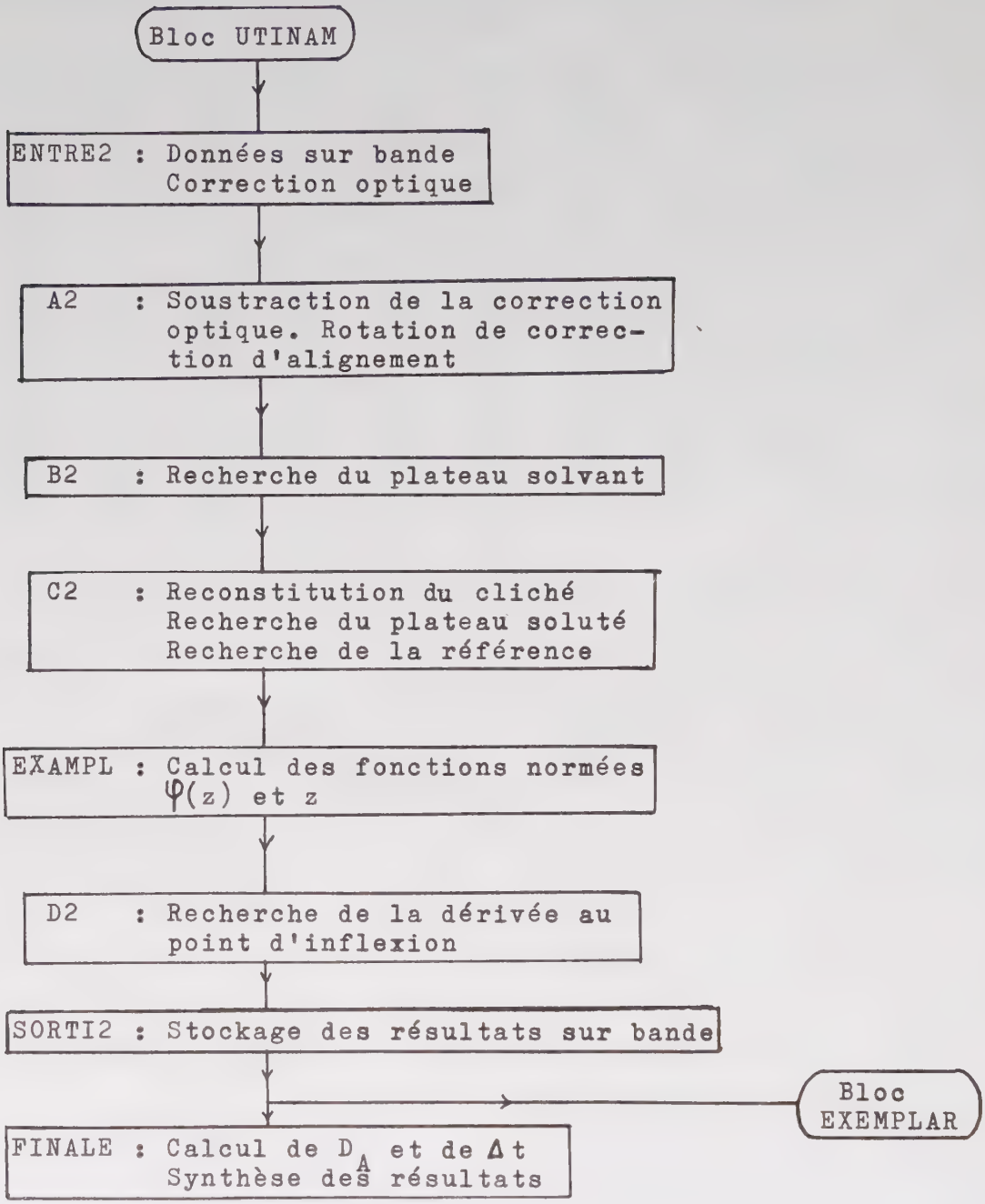


Figure 4C.

C.1.3.2. Soustraction de la correction optique et rotation de correction (segment A2)

Après soustraction de la correction optique (segment F3), une rotation de correction est parfois nécessaire (B.4.2.2.2.4.). La régression linéaire (segment A3) entre les écarts des ordonnées et les abscisses permet de définir une rotation de correction (segment D3). Pour que la rotation ait un sens, il faut qu'elle s'applique sur la lecture originelle ; ceci veut dire que seul le centre de rotation de la platine est un point invariant dans toute rotation.

C.1.3.3. Recherche du plateau solvant (segment B2)

Après soustraction définitive de la correction optique, les valeurs des ordonnées sont arbitraires. La partie gauche du cliché, éloignée du centre de ce dernier, correspond à la zone de la cellule pour laquelle le solvant est pur : cette partie est donc rectiligne (ordonnées Y constantes). La statistique (segment B3) de ces valeurs permet de définir une valeur de l'ordonnée qui correspond à la déviation minimale du faisceau lumineux incident. Cette valeur est la référence des ordonnées ($Y = 0$).

C.1.3.4. Segment C2

Il est constitué de trois parties.

C.1.3.4.1. Reconstitution du cliché par saut d'interfrange

Comme le montre la figure 8B, un cliché de diffusion ne donne pas une représentation continue de la déviation de la lumière au centre du cliché, lorsque le nombre maximal J de franges est supérieur à cinq environ. Cette coupure est en relation avec la diffraction au bord des fentes du masque [50]. Dans la partie centrale, le lecteur suit une frange donnée. Lorsque celle-ci s'estompe, il décale le pointé d'un ou deux interfranges. Les valeurs $Y(X)$, divisées par l'interfrange Ky , donnent le nombre d'onde (A.1.2.).

Dès que deux valeurs successives $Y(X) / Ky$ sont nettement différentes, il y a eu un saut de franges à la lecture et l'ordinateur doit ajouter une unité au nombre d'onde obtenu précédemment. Ainsi est obtenue la fonction d'onde continue $j(X)$. (Figure 1C).

C.1.3.4.2. Recherche du plateau soluté

La partie droite du cliché, éloignée du centre, correspond à la zone de la cellule où le soluté est homogène. La statistique (segment B3) des nombres d'onde $j(X)$ dans cette zone permet d'obtenir le nombre différentiel maximal de longueur d'onde J (A.10).

C.1.3.4.3. Recherche de la référence

Comme il a été indiqué en A.1.5., il est possible d'obtenir une valeur m_1 de l'abscisse indépendante du temps. Il est apparu dans le calcul numérique de l'intégrale (A.35) qu'un lissage préalable des $j(X)$ était nécessaire. Le lissage choisi est le suivant :

$$j_i(X) = (j_{i-1}(X) + 2\, j_i(X) + j_{i+1}(X))/4$$

La méthode d'intégration est celle du trapèze. Les bornes d'intégration sont toujours les mêmes : $X = -15$ mm à $X = 15$ mm

C.1.3.5. Segment EXAMPL

Après avoir obtenu le nombre maximal de longueur d'ondes J et la référence des ordonnées m_1, il est possible de calculer les transformées normées de la fonction d'onde (A.11) et de l'abscisse (A.3), soit :

$$\varphi(z) \equiv f(j) = \left(\frac{j(x)}{J/2} - 1\right) \qquad (A.11)$$

$$z = \frac{x}{\sqrt{4.t}} \qquad (A.3)$$

C.1.3.6. Segment D2

La mesure de la trace dans la partie centrale du cliché de diffusion est effectuée pour des valeurs équidistantes de l'abscisse X . L'intervalle choisi entre deux abscisses consécutives est fonction de la variation du nombre d'onde (soit 25, 50 ou 100 microns). Ceci est nécessaire pour obtenir la dérivée au point d'inflexion X_m (A.1.4.1.). Il faut donc rechercher dans les valeurs $j(X)$, celles pour lesquelles l'intervalle entre les abscisses est constant et ainsi calculer l'intervalle. Dans le calcul des différences δj (A.34), un lissage est utile pour faciliter la recherche ultérieure du maximum $\delta j/\delta x$ soit :

$$\delta j = \left((y_{j+\delta x} - y_j) + (y_{j+2\ \delta x} - y_{j+\delta x}) + (y_j - y_{j-\delta x}) \right)/3$$

La figure 5C montre la différence des résultats, obtenus avec et sans lissage. Pour chaque multiple de δx , la valeur $(\delta j/\delta x)$ maximale est recherchée. (Segment H3). Pour un cliché donné, les coefficients de la fraction rationnelle (A.34) sont recherchés (Segment DCE. AMAFR. critère des moindres carrés [33]). Ainsi est obtenue la valeur $j'(x_m,t)$ [DIFMAX]. La relation (A.34) est d'autant plus exacte que $(\delta x)^2$ est plus proche de zéro. Aussi dans l'application du critère des moindres carrés, un poids statistique plus élevé est donné aux valeurs de $(\delta j/\delta x)_{x=x_m}$ pour lesquelles $(\delta x)^2$ est plus petit. (Figure 6C). L'organigramme détaillé ainsi que le listing de ce segment sont donnés en Annexe.

C.1.3.7. Segment SORTI2

D'un cliché donné, le cliché de correction optique a été soustrait. Les plateaux solvant et soluté ont été calculés ainsi que les divers points de référence (j/2, j/3, 2j/3). La dérivée au point d'inflexion a été obtenue numériquement et la valeur J_o^2 (A.28) peut être calculée. L'ensemble de ces résultats est groupé sur une même feuille d'impression (Figure 7C). Les valeurs $f(j)$ et z sont stockées sur une bande "données" de la même manière que précédemment (C.1.2.2.4.)

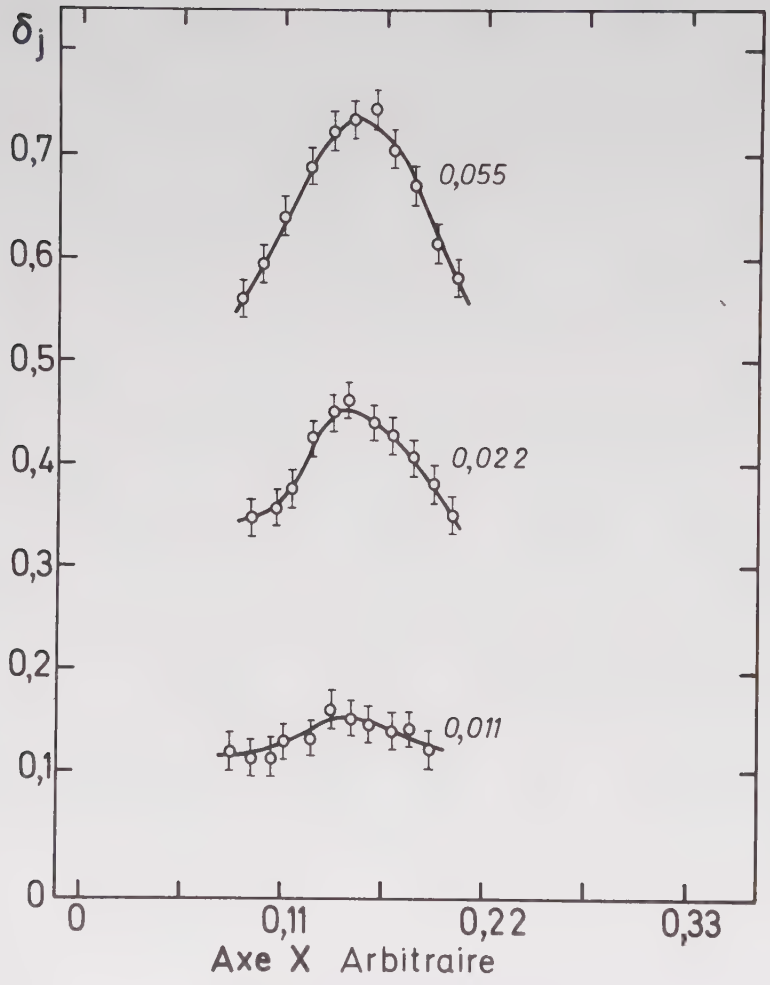


Figure 5C : Représentation de la différence δj des fonctions d'onde pour des abscisses x équidistantes consécutives. La valeur entre deux abscisses est successivement 0.011, 0.022, 0.055 cm.

$\overline{\overline{\text{o}}}$ Points expérimentaux (+ 0.01 franges)
Trait plein: courbe aprés lissage des points expérimentaux (cf. C.1.3.6.)

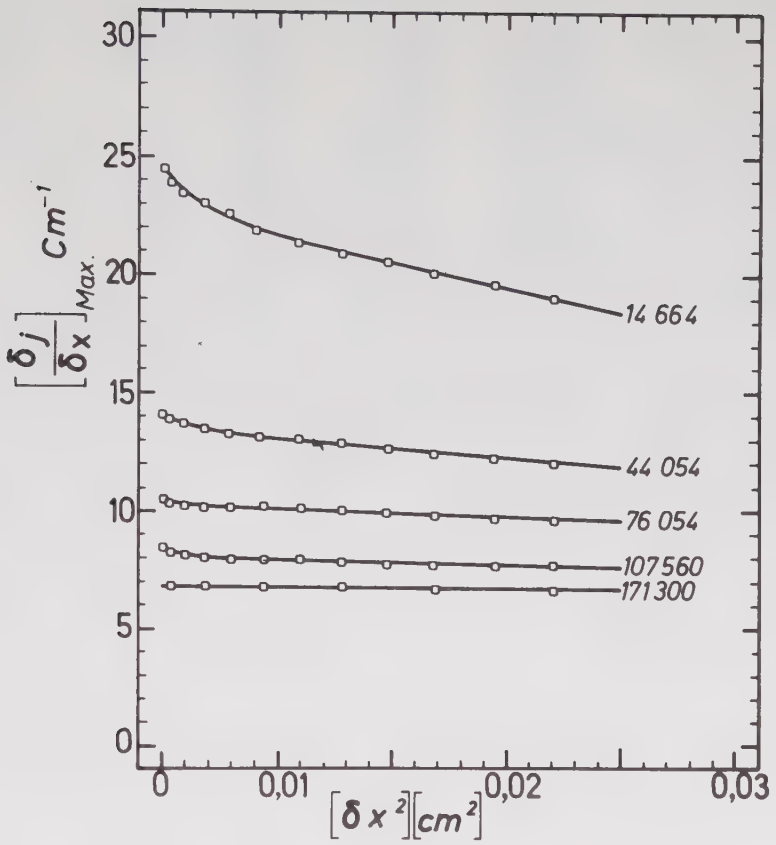


Figure 6C : Représentation de la valeur maximale de $(\delta j/\delta x)$, obtenue à des temps différents (14664 à 171300 secondes), en fonction de δx^2 .

D C E
SACLAY

PHOTO 71/3/31/21 LANGOUET 7/4/71 COR. OPTIQ. CO/71/3/31 LANGOUET 31/3/71

TEMPS = 10287.0 KL = 160

DUX A PARTIR DES DONNEES SUR H52060

PLATEAU GAUCHE 186.8568 ERREUR .0013
PLATEAU DROIT 6.679 ERREUR .0080

M1= .0068 DJ/2 -.0058 3.340 DJ/3 -.1221 2.226 2DJ/3 .1251 4.453

MAXIMUN DU PIC = 17.3997 DELTAX = .0220 JZERO = 4.125E-01

	DDX2	DDJ/DDX	
1	4.8189E-04	10.3269	10.3664
2	1.9276E-03	10.3138	10.2722
3	4.3370E-03	10.1653	10.1315
4	7.7102E-03	9.9386	9.9629
5	1.2047E-02	9.7341	9.7835
6	1.7348E-02	9.5873	9.6065
7	2.3613E-02	9.4073	9.4405
8	3.0841E-02	9.3050	9.2896
9	3.9033E-02	9.2080	9.1554
10	4.8189E-02	9.1094	9.0377
11	5.8309E-02	9.0005	8.9351
12	6.9392E-02	8.9035	8.8461
13	8.1439E-02	8.8170	8.7691
14	9.4450E-02	8.7334	8.7022
15	1.0843E-01	8.6438	8.6442
16	1.2336E-01	8.5544	8.5936
17	1.3927E-01	8.4571	8.5495
18	1.5613E-01	8.3343	8.5108
19	1.7396E-01	8.2208	8.4767
20	1.9276E-01	8.0876	8.4467

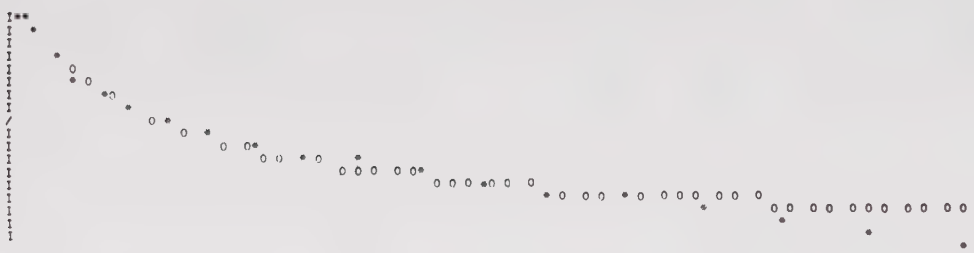


Figure 7C : Sortie sur imprimante du bloc DUX pour un cliché donné.

* Valeurs expérimentales
O Valeurs calculées par (A.34)

C.1.3.8. Segment FINALE

Toutes les opérations indiquées (C.1.3.1. à C.1.3.7.) sont exécutées pour l'ensemble des clichés d'une même expérience. Puis la régression linéaire J_o^2 en fonction du temps permet d'obtenir le coefficient de diffusion moyen D_A et l'erreur sur le temps Δt (4.1.4.) :

$$J_o^2 = \frac{j'_x(x_m, t')}{J}^2 = 4\pi D_A \cdot (t' + \Delta t) \qquad (A.29)$$

Il reste alors à présenter l'ensemble des calculs effectués (Figure 8C) sous une forme concise :

8_1C : résultats généraux . Régression linéaire J_o^2/t

8_2C : ensemble des valeurs $j(X)$

8_3C : ensemble des valeurs normées $\varphi(z)$

8_4C : caractéristiques générales des clichés

8_5C : représentation de la variation des points de référence

8_6C..: synthèse des résultats pour chaque cliché.

Cette présentation permet de conserver un nombre limité de documents, d'éliminer dans les calculs futurs une lecture dont les résultats seraient aberrants par rapport aux autres lectures ou de rechercher directement les causes d'une distorsion des résultats.

C.1.4. ETAPE 3 : BLOC EXEMPLAR

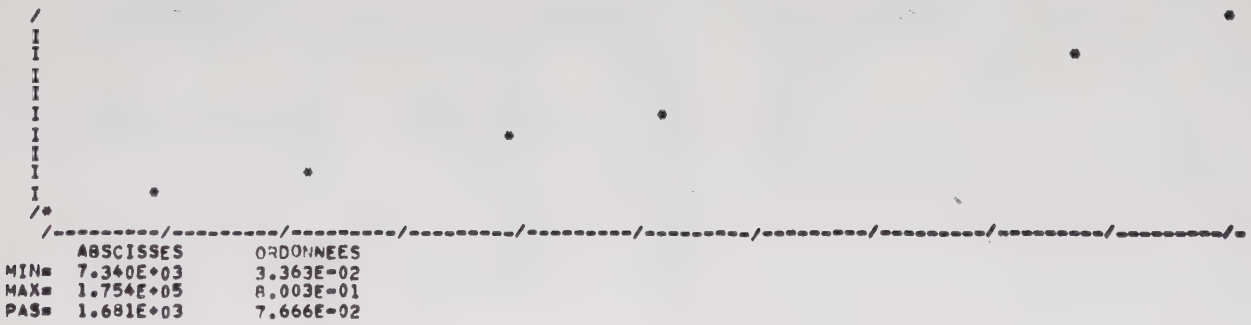
L'organigramme de cette étape est décrit sur la figure 9C.

C.1.4.1. Segment ENTRE3

La valeur du coefficient de diffusion moyen D_A , celle de l'erreur sur le temps Δt , les diverses valeurs $\varphi(z)$ pour chaque temps sont introduites. L'erreur sur le temps permet de calculer le temps réel $(t' + \Delta t)$ et de corriger les valeurs z précédemment obtenues :

$$z = (z.\sqrt{t'}) / (\sqrt{t' + \Delta t})$$

COEFFICIENT DE DIFFUSION = 3.570E-07 CM**2
ERREUR DE TEMPS = 744.5 SECONDES



	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN=	7.340E+03	3.363E-02
MAX=	1.754E+05	8.003E-01
PAS=	1.681E+03	7.666E-02

Figure 8_1C : Sortie du bloc DUX. J_o^2 en fonction du temps.

	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN=	-2.486E+00	-7.992E-02
MAX=	2.401E+00	5.452E+00
PAS=	4.072E-02	1.106E-01

Figure 8_2C : Sortie du bloc DUX. Représentation des fonctions d'onde j(x) en fonction du temps pour l'ensemble des clichés .

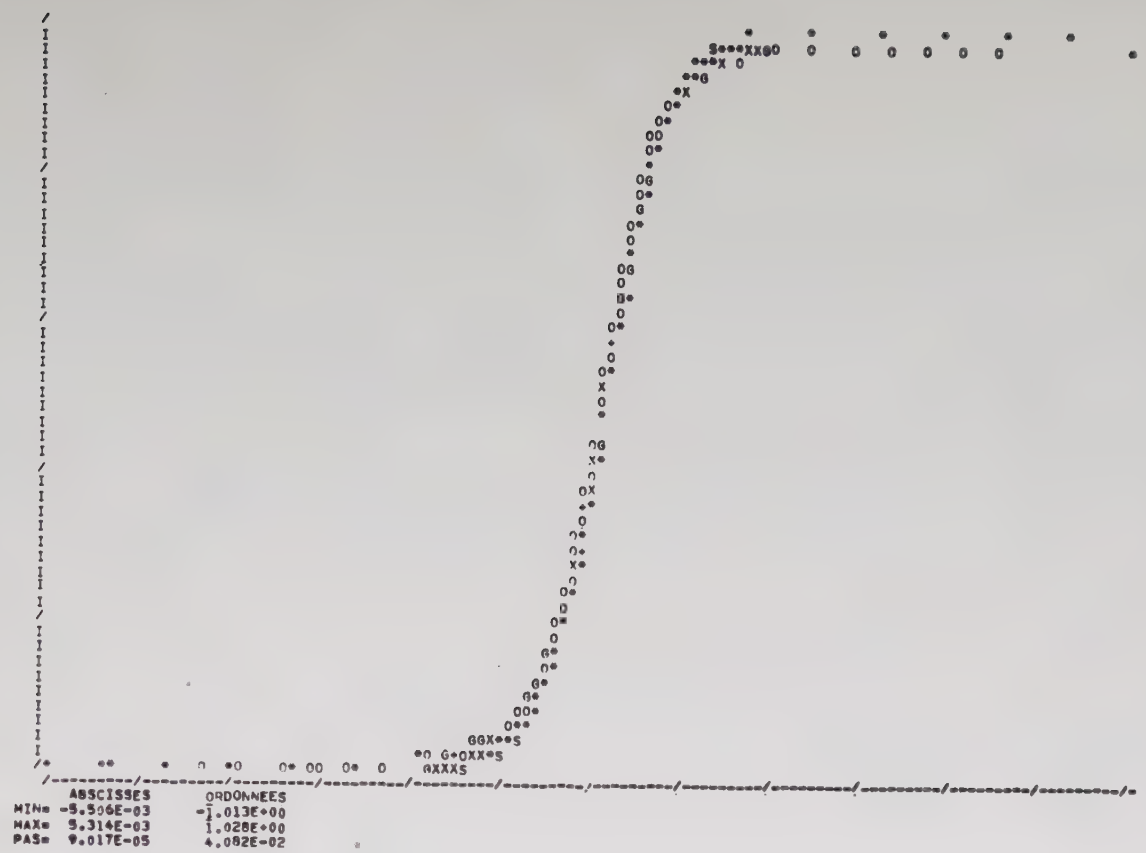
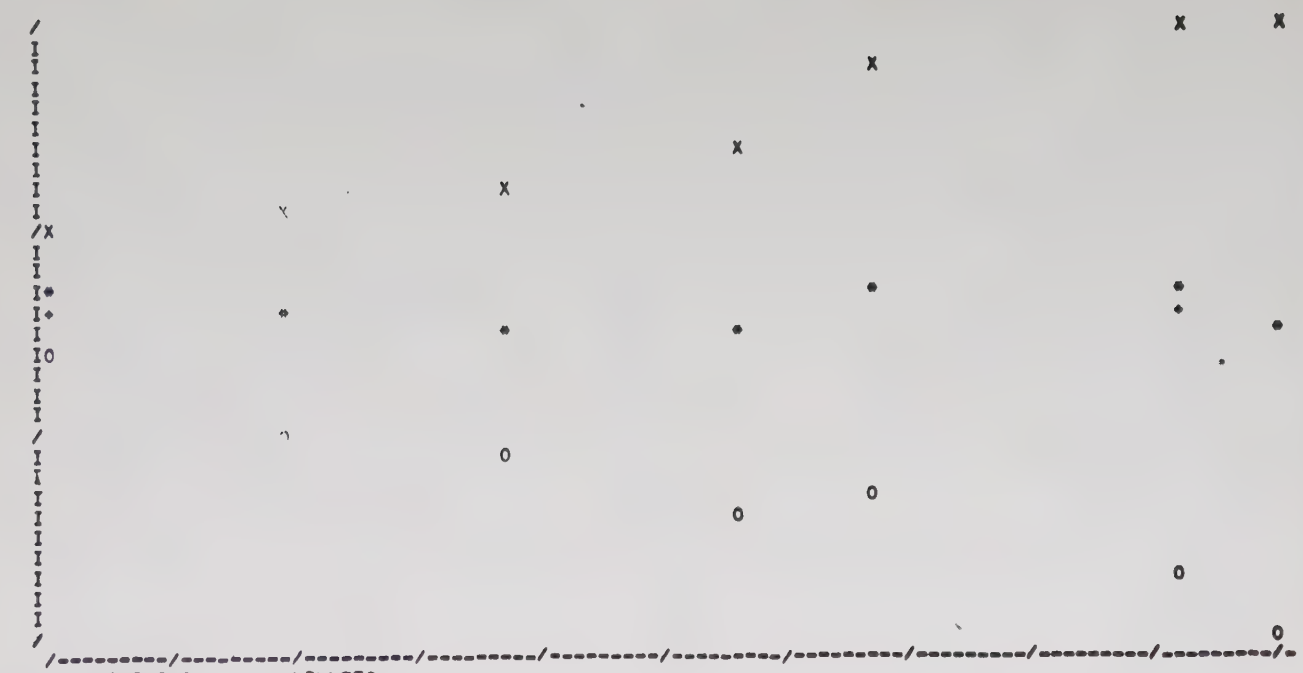


Figure 8_3C : Sortie du bloc DUX. Représentations des fonctions normées (z) en fonction de z à différents temps.

TEMPS (SEC.)	DELTA J	DELTJ/2 (CM.)	DELTJ/3 (CM.)	2DELTJ/3 (CM.)	M1 (CM.)	(DJ/DX)MAX (CM-1)	JO**2 (CM**2)	T**(1/2) (SEC**1/2	PHOTO
7340	5.122	.018	-.014	.051	.009	27.930	3.363	85.67	71/4/5/5/ LANGOUET 20/4/71
22020	5.304	.005	-.052	.062	.010	16.185	10.741	148.39	71/4/5/7 LANGOUET 21/4/71
43987	5.235	-.000	-.074	.080	-.000	12.108	18.690	209.73	71/4/5/8 LANGOUET 20/4/71
73344	5.213	-.004	-.104	.098	-.002	8.951	33.924	278.82	71/4/5/11 LANGOUET 20/4/71
95359	5.406	.021	-.097	.146	.017	8.096	44.590	308.80	71/4/5/14 LANGOUET 21/4/71
153930	5.397	.019	-.139	.161	.014	6.576	67.338	392.34	71/4/5/16 LANGOUET 21/4/71
175415	5.376	.003	-.169	.165	.002	6.010	80.027	418.83	71/4/5/17 LANGOUET 21/4/71

Figure 8_4C : Sortie du bloc DUX. Caractéristiques générales des clichés enregistrés.



	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN=	8.567E+01	-1.693E-01
MAX=	4.188E+02	1.655E-01
PAS=	3.332E+00	1.116E-02

Figure 8_5C : Sortie du bloc DUX. Caractéristiques géométriques des clichés au cours du temps.
x 2J/3 ,* m_1 , + J/2 , o J/3.

PHOTO 71/4/5/5/ LANGOUET 29/4/71 COR. OPT. CO/71/3/31 LANGOUET 31/3/71
XYL . 83

-2.4812	-.0005	-.7460	-.0102	-.0611	.9922	.1277	4.7250	.8019	5.1718
-2.3707	.0532	-.6355	-.0271	-.0500	1.1798	.1388	4.8304	.9106	5.1220
-2.2602	.0123	-.5250	.0075	-.0389	1.4102	.1499	4.9129	1.0305	5.1367
-2.1497	.0351	-.4145	.0054	-.0278	1.6064	.1609	4.9383	1.1410	5.1196
-2.0391	-.0051	-.3039	.0644	-.0166	1.8768	.1720	4.9923	1.2516	5.0921
-1.9286	-.0051	-.1934	.0965	-.0055	2.2077	.1830	5.0290	1.3621	5.1162
-1.8181	-.0178	-.1824	.1176	.0056	2.4649	.1941	5.0790	1.4726	5.0841
-1.7076	.0077	-.1713	.1448	.0167	2.7963	.2052	5.0890	1.5831	5.1074
-1.5971	-.0128	-.1602	.1643	.0279	3.1077	.2162	5.1190	1.6936	5.1032
-1.4866	-.0644	-.1492	.2049	.0390	3.3449	.2273	5.1261	1.8041	5.1167
-1.3760	-.0164	-.1381	.2445	.0501	3.6078	.2383	5.1276	1.9146	5.1198
-1.2655	-.0064	-.1270	.3208	.0612	3.8316	.2494	5.1480	2.0251	5.1378
-1.1550	.0202	-.1160	.3514	.0723	4.0468	.3599	5.1762	2.1356	5.1546
-1.0445	-.0243	-.1052	.4817	.0834	4.2221	.4704	5.1693	2.2461	5.1399
-.9434	0.0000	-.0941	.5452	.0945	4.3546	.5809	5.1786	2.3566	5.1583
-.8548	-.0065	-.0832	.7054	.1056	4.5156	.6914	5.1939		
-.8329	-.0198	-.0722	.8045	.1166	4.6311	.8014	5.1433		

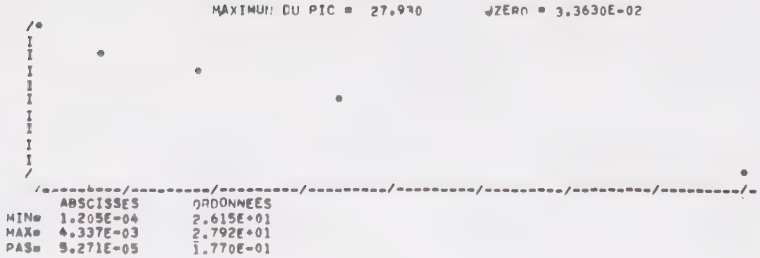
TEMPS = 7340 SECONDES KL = 87

PLATEAU GAUCHE 184.1818 ERREUR .0028

PLATEAU DROIT 5.1220 ERREUR .0125

FREQUENCE	DJ/DX	DX2
	27.922	1.20E-04
	27.628	4.82E-04
	27.327	1.08E-03
	27.013	1.93E-03
	26.540	3.01E-03
	26.153	4.34E-03

MAXIMUM DU PIC = 27.930 ZERO = 3.3630E-02



	ABSCISSES	ORDONNEES
MIN=	1.205E-04	2.615E+01
MAX=	4.337E-03	2.792E+01
PAS=	9.271E-05	1.770E-01

Figure 8_6C : Sortie du bloc DUX. Synthèse des résultats obtenus pour un cliché particulier.

Bloc EXEMPLAR

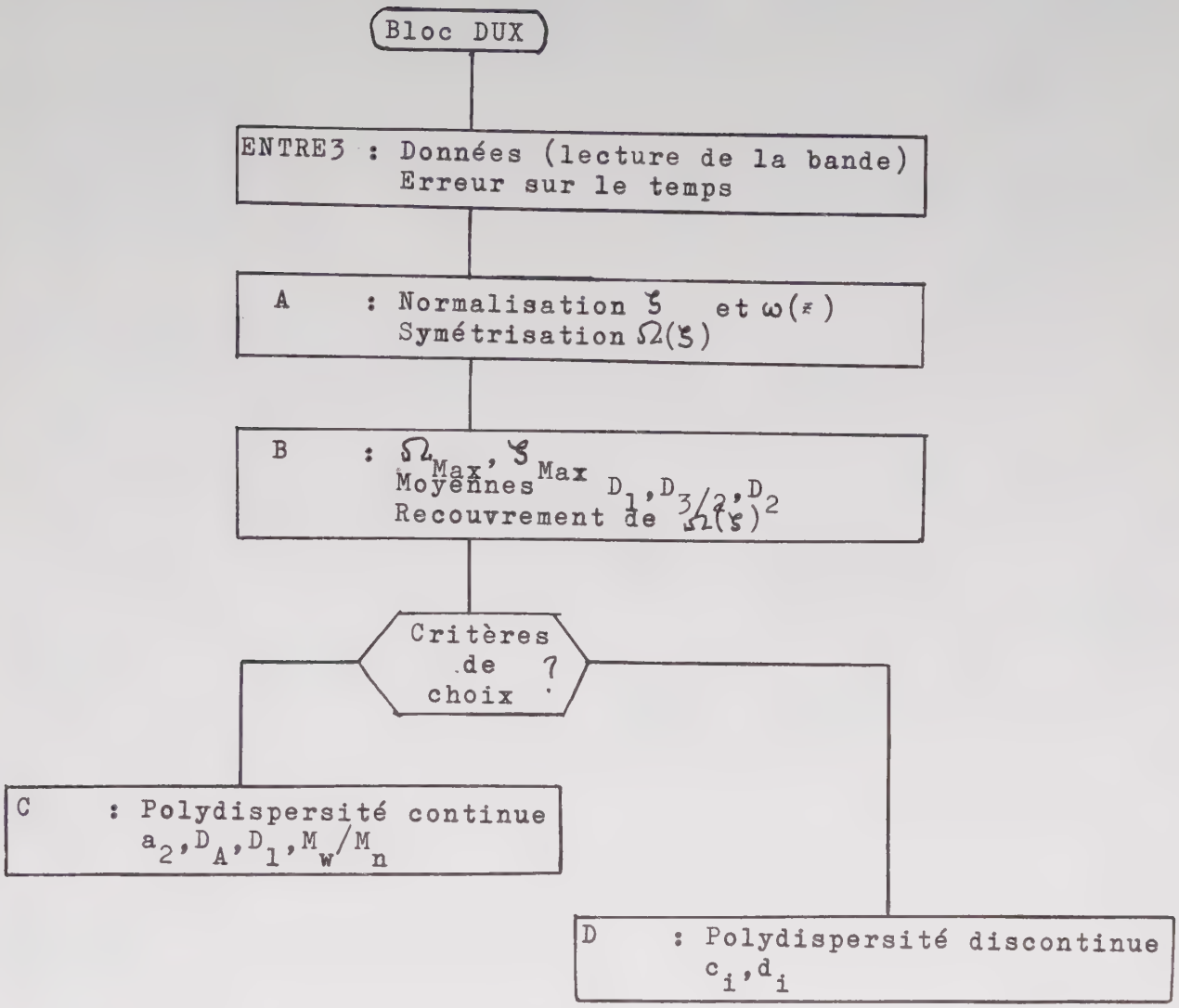


Figure 9C .

C.1.4.2. Segment A

Pour chaque valeur de z , la valeur $\varphi(-z)$ est calculée par approximation linéaire. Ceci permet de calculer les relations nécessaires à l'étude de la polydispersité :

$$\zeta = z/\sqrt{D_A} \qquad (A.38)$$

$$\omega(z) = \Phi(z/\sqrt{D_A}) - \varphi(z) \qquad (A.36)$$

$$\Omega(\zeta) = \frac{1}{2}\left[\omega(\zeta) - \omega(-\zeta)\right] \qquad (A.37)$$

La représentation graphique globale de ces observables est alors donnée : $\varphi(z)$, $\omega(z)$, $\Omega(\zeta)$. (Figures 10C à 12C)

C.1.4.3. Segment B

Ce sous-programme exécute successivement les opérations suivantes :

- Calcul du maximum Ω_{max} de $\Omega(\zeta)$ et la valeur ζ_{max} correspondante (segment H3)

- Calcul des moyennes des coefficients de diffusion D_1, D_2,... après avoir obtenu le recouvrement mathématique local de la fonction $\Omega(\zeta)$.

En effet, comme nous le verrons (C.2), le calcul numérique des moments de la fonction $\Omega(\zeta)$ dépend grandement des valeurs de cette fonction pour $\zeta > 1$.

L'utilisation des critères (A.2.4.1.) permet de qualifier la distribution étudiée.

C.1.4.4. Segment C. Polydispersité continue

Comme nous l'avons vu en A.2.2.2.2., une méthode graphique à partir des valeurs D_A et Ω_{max} a été développée. Ce sous-programme se borne donc à indiquer le type de la polydispersité et à rappeler la valeur des constantes nécessaires à son traitement graphique.

C.1.4.5. Segment D. Polydispersité discontinue

Il existe, dans l'ensemble des valeurs expérimentales $\varphi(z)$, un certain nombre de valeurs $\varphi(z)$ pour lesquelles l'intervalle entre deux abscisses consécutives z est constant (C.1.3.6). Les procédés de dérivation proposés en (A.2.3.2.) nécessitent l'équidistance des abscisses. Enfin la décomposition en sommes d'exponentielles est effectuée par le sous-programme bibliothèque D.C.E. AMAEX1, qui utilise les moindres carrés comme critère de recouvrement . [33].

C.2. - RESULTATS EXPERIMENTAUX

C.2.1. PRODUITS

C.2.1.1. Saccharose

Les solutions de saccharose sont obtenues par dilution d'une solution commerciale à 10 % (DIFCO. Detroit). Aucune mesure directe des concentrations utilisées n'est effectuée. Les mesures de diffusion ont été faites principalement à 12°C.

C.2.1.2. Cytochrome C

Une solution concentrée (5 à 7 mg ml^{-1}) dans du tampon phosphate 0.02 M pH 7.0 est préparée à partir de cytochrome C cristallisé, extrait de coeur de cheval (SIGMA. Type VI). Les diverses concentrations sont obtenues par dilution de la solution mère. Ces opérations sont faites à froid (4°C). Les concentrations sont mesurées spectrophotométriquement à λ = 339 nm et λ = 434 nm, valeurs des longueurs d'onde pour lesquelles le coefficient d'extinction moléculaire du cytochrome oxydé égale celui du cytochrome réduit [51].

C.2.1.3. Fibrinogène humain

Ce produit lyophilisé, préparé au centre de transfusion sanguine de Montpellier, est mis en solution dans du tampon phosphate 0.3 M, pH 6.1. Pour le dosage spectrophotométrique à λ = 280 nm, le coefficient d'extinction molaire utilisée est égal à 14.1.

C.2.1.4. Protéines des structures plastidiales

La technique de préparation de ces protéines, extraites des plastes de plantules de Zea Mays L (souche INRA 260), a été mise au point au service de biochimie du Département de Biologie du C.E.N Saclay par J. DURANTON et B. LAGOUTTE [52]. Ces protéines sont solubilisées dans une solution tampon Dodecylsulfate de sodium 0.1 %, NaCl 0.1 % , phosphate 0.01 M, pH 7.8. La préparation élimine en totalité les pigments et plus de 99.5 % des lipides associés aux protéines plastidiales. La concentration peut être mesurée soit par dosage d'azote (Kjeldahl), soit par dosage spectrophotométrique (λ = 280 nm ; ε = 14.).

Tous les produits utilisés en diffusion subissent, comme nous l'avons signalé (B.2.3.), une centrifugation préparative. Les protéines sont soumises à une ou deux dialyses préalables contre le tampon. Sauf indication particulière, toutes les mesures ont été effectuées à (20.0 $\pm$ 0.1)°C.

La diffusion d'autres produits a été étudiée mais les résultats n'ont pas été retenus. En effet, ces mesures ont été effectuées à une époque où la méthode de diffusion n'avait pas atteint son développement actuel (actomyosine [7], ribonucléase), ou sur des produits trop instables (sous-fragment S1 de la molécule de myosine A).

Les résultats sont présentés de manière à montrer la progression des informations obtenues avec la finesse de l'analyse des diagrammes de diffusion. La précision sur les divers résultats est alors indiquée (C.2.6.).

C.2.2. REALISATION DES EXPERIENCES

C.2.2.1. Nombre différentiel maximal J et $\Delta n / \Delta c$

L'étude de plusieurs produits à des concentrations différentes a permis la mesure du nombre différentiel maximal de longueur d'onde J (cf. A.1.2. et B.4.2.2.2.). Ainsi :

Saccharose (T = 12°C) :

$\bar{c}$ = 3°/oo Δc = 4°/oo		$\bar{c}$ = 3.5°/oo Δc = 3°/oo		$\bar{c}$ = 4°/oo Δc = 2°/oo		$\bar{c}$ = 4.5°/oo Δc = 1°/oo	
t(s.)	J	t(s.)	J	t(s.)	J	t(s.)	J
26	19.16_7	600	14.48_8	952	9.74_4	400	5.05_2
263	19.16_8	3 616	14.48_9	4 120	9.73_3	3 530	5.05_8
2 700	19.20_4	9 208	14.26_2	14 485	9.78_4	7 216	5.06_1
4 466	19.11_2	14 478	14.43_0	21 741	9.71_7	14 456	5.06_1
5 676	19.12_3						
8 852	19.16_7						
14 465	19.16_2						
J =	19.16_4	J =	14.46_9	J =	9.74_9	J =	5.05_8

Protéines plastidiales

$\bar{c}$ = 0.50 mg. ml^{-1} Δc = 0.85 mg. ml^{-1}		$\bar{c}$ = 0.92 mg. ml^{-1} Δc = 1.23 mg. ml^{-1}		$\bar{c}$ = 0.70 mg. ml^{-1} Δc = 0.87 mg. ml^{-1}		$\bar{c}$ = 0.62 mg. ml^{-1} Δc = 0.69 mg. ml^{-1}	
t(s.)	J	t(s.)	J	t(s.)	J	t(s.)	J
1 093	6.54	5 828	9.52	21 900	6.37	22 020	5.30
6 216	6.53	12 457	9.54	44 015	6.61	43 987	5.24
9 489	6.54	14 647	9.51	51 632	6.69	75 344	5.21
14 368	6.52	21 981	9.44	69 470	6.66	95 359	5.41
50 807	6.35	36 669	9.46	90 715	6.75	153 930	5.40
				102 810	6.74	175 415	5.38
J = 6.54		J = 9.50		J = 6.68		J = 5.33	

Le nombre J est proportionnel à la différence d'indice de réfraction Δn entre le soluté et le solvant :

$$J = a . \Delta n / \lambda \qquad (A.10)$$

où a est la distance parcourue par la lumière à l'intérieur de la cellule de diffusion.

$$a = (1.950 \pm 0.001)\ cm$$

Connaissant la longueur d'onde de la lumière utilisée (Na : 589.5nm), il est possible de calculer le rapport du gradient Δn d'indice de réfraction à celui Δc de la concentration, soit :

saccharose (T = 12°C)	0.145_0
protéines plastidiales	0.233_0
fibrinogène	0.217_6
cytochrome c	0.195_4

Les présentes valeurs pour le saccharose sont à comparer à celles obtenues par interférence de Gouy par L.J. GOSTING [53], en tenant compte de la température. La précision sur la mesure absolue de l'indice de réfraction est bien 10^{-7} à 5.10^{-8} unités d'indice. De plus il existe bien une relation linéaire entre l'indice de réfraction et la concentration dans la gamme des concentrations étudiées (Figure 12C). Enfin le fait que J reste constant aux erreurs de lecture près (cf. B.4.2.2.2.) montre qu'il n'y a pas eu de fuites de produit entre le canal de diffusion et le canal de référence.

C.2.2.2. Décalage de l'origine des temps

L'affinement initial de la frontière est d'autant plus facile que le produit étudié a un coefficient de diffusion plus élevé et partant une viscosité plus faible. L'erreur sur le temps initial Δt (cf. A.1.4.) dépend ainsi [41] :

- de la viscosité du produit étudié
- de la qualité de la manipulation

Les valeurs suivantes ont été obtenues :

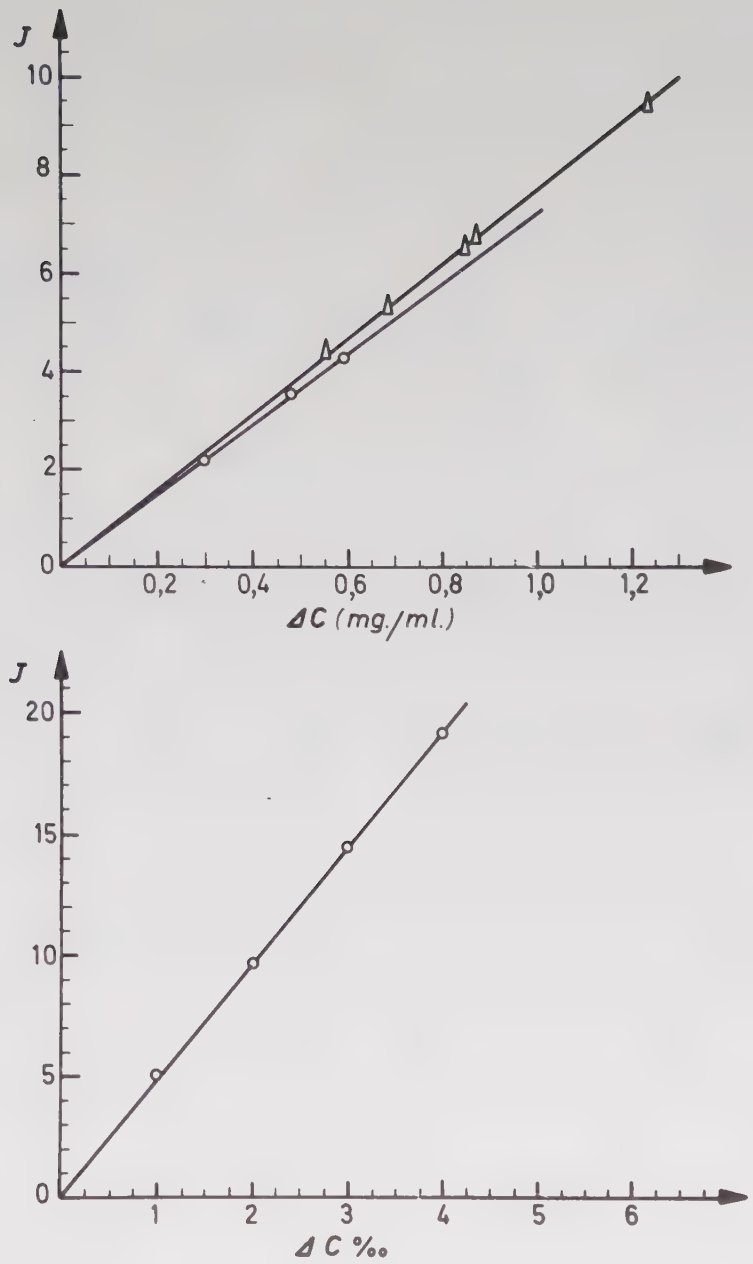


Figure 12C : Variation du nombre différentiel de longueur d'onde J en fonction de la différence des concentrations Δc entre le solvant et le soluté.

En haut: Δ protéines plastidiales
o fibrinogène humain

En bas : o saccharose

saccharose	$\bar{c}$ °/oo	Δt(s.)	
	3.0	15	
	3.5	50	Δt_{moyen} = 36 secondes
	4.0	40	
	4.5	38	
cytochrome c	$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	Δt(s.)	
	0.34	250	Δt_{moyen} = 238 secondes
	0.43	225	
Protéines plastidiales	$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	Δt(s.)	
	0.70	649	
	0.62	745	
	0.40	560	Δt_{moyen} = 530 secondes
	0.50	440	
	0.92	254	
fibrinogène	$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	Δt(s.)	
	0.45	1700	Δt_{moyen} = 1900 secondes
	0.52	2100	
actomyosine	$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	Δt(s.)	
	0.25	3800	Δt_{moyen} = 3800 secondes

C.2.2.3. Caractéristiques géométriques des diagrammes de diffusion

Le calcul des fonctions normées $\varphi(z)$ (cf. A.1.2.) pour chaque temps, la représentation de $j(x)$ d'une part et de $\varphi(z)$ d'autre part sur un même graphique (Figures 8_2C et 8_3C) décrivent globalement l'évolution de la diffusion au cours du temps et l'homogénéité des résultats.

L'étude des caractéristiques géométriques de la fonction $j(x)$ (m_1^*, $X_{j/2}$, $X_{j/3}$, $X_{2j/3}$) rend compte de l'évolution de celle-ci (Figure 13C). Une fuite intermittente de produit au niveau de la fente d'écoulement ne peut être décelée que par cette étude. En effet, les mesures sont effectuées à des intervalles de temps assez grands et la diffusion compense plus ou moins rapidement toute

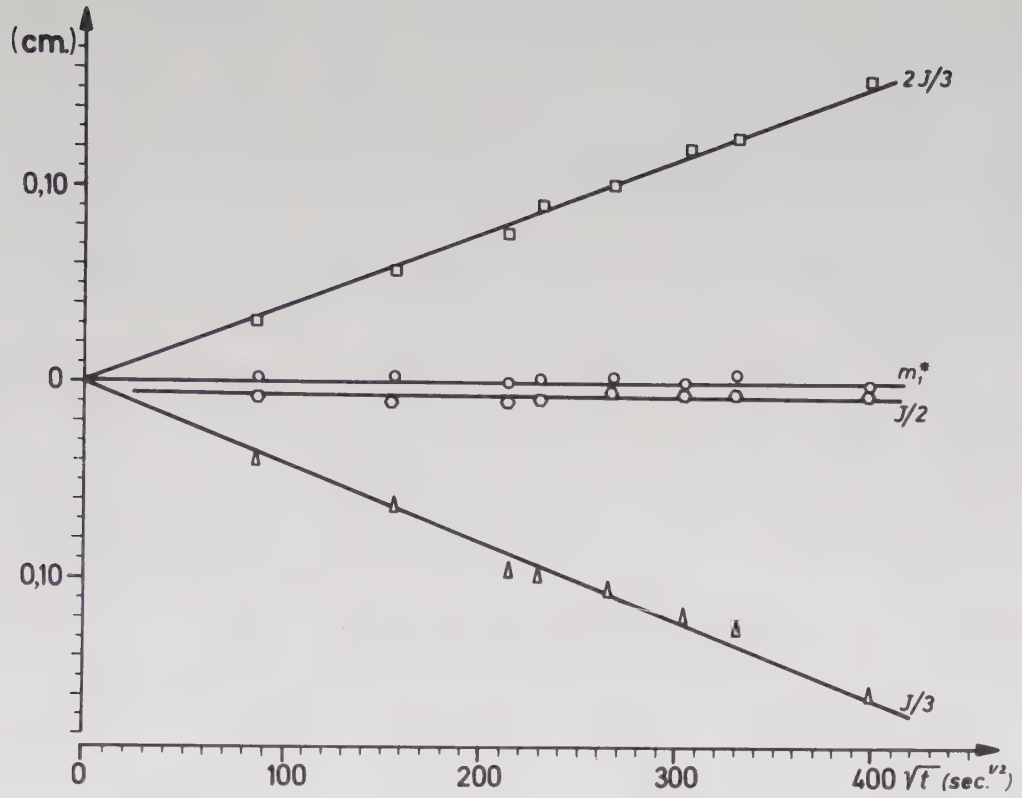


Figure 13C : Variation des caractéristiques géométriques des fonctions d'onde j(x) avec le temps. (expérience I_a sur les protéines plastidiales)

anomalie passagère de la frontière. Un tel phénomène se traduirait sur la figure 13C par une non linéarité de $X_{j/3}$ et $X_{2j/3}$ en fonction du temps.

C.2.3. ETUDE DU COEFFICIENT DE DIFFUSION MOYEN D_A

Nous distinguerons trois comportements pour le coefficient de diffusion moyen.

C.2.3.1. D_A fixe

Le coefficient de diffusion moyen obtenu est toujours le même quel que soit le temps d'observation et le produit étudié.

C.2.3.1.1. Saccharose (Figure 14C)

T = 12°C	Δc °/oo	$\bar{c}$ °/oo	$10^6 . D_A$ $cm^2 s^{-1}$	
	4	3.0	3.68_2	
	3	3.5	3.64_1	$D_A = 3.68_4 . 10^{-6}$ $cm^2 s^{-1}$
	2	4.0	3.70_3	
	1	4.5	3.65_5	

Le coefficient de diffusion D_A ne dépend aucunement de la concentration. Ceci justifie les hypothèses émises à ce sujet (Partie A). De plus la valeur obtenue correspond à celle publiée par L.J. GOSTING $D_{A_{12°C}} = 3.70\ 10^{-6}$ cm^2 s^{-1} [53].

C.2.3.1.2. Cytochrome c

$\bar{c}$ $mg.ml^{-1}$	10^7 D_A cm^2 s^{-1}
0.34	11.43
0.43	11.58

Ce produit a été utilisé pour contrôler la méthode. La valeur peut être comparée à celle obtenue ($11.40\ 10^{-7}$ cm^2 s^{-1}) par EHRENBERG [54].

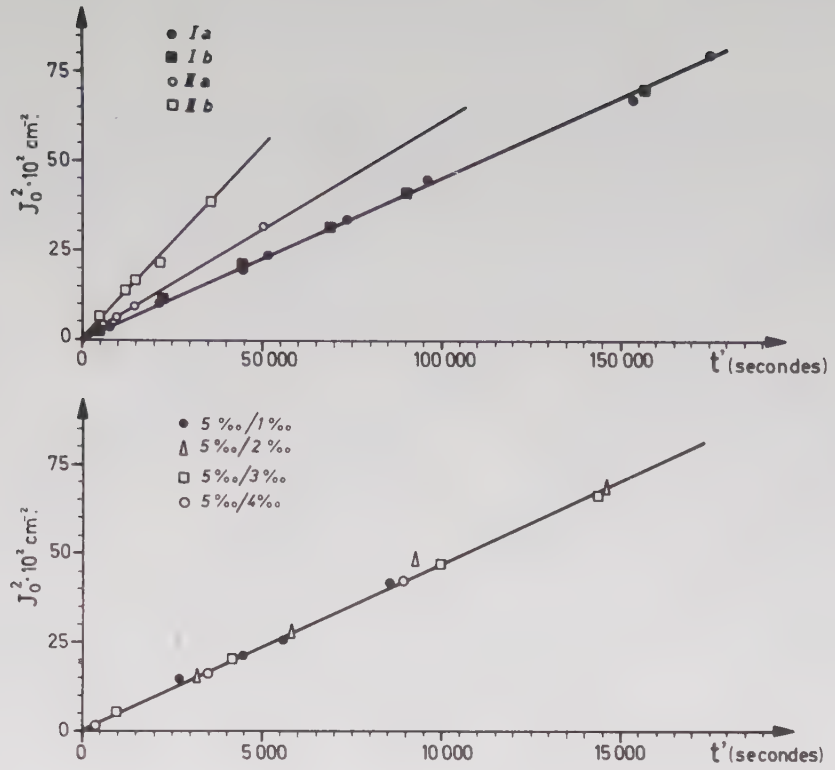


Figure 14C : Variation de la grandeur expérimentale J_o^2 (A.28) en fonction du temps expérimental t'.

En haut : protéines plastidiales
En bas : saccharose pour quatre concentrations.

C.2.3.2. D_A, variable avec la préparation étudiée (protéines plastidiales)

Plusieurs expériences ont été faites avec ce produit. Le coefficient de diffusion D_A ne varie pas avec le temps lors d'une expérience donnée mais varie d'une préparation à une autre ou même d'une expérience à une autre (Figure 14C).

Préparation I :

$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	J	$10^7.D_A$ cm^2. s^{-1}	No
0.70	6.68	3.56_3	Ia
0.62	5.33	3.57_0	Ib
0.40	4.51	3.52_4	Ic

Le coefficient de diffusion ne dépend pas de la concentration.

Préparation II :

$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	J	$10^7.D_A$cm^2. s^{-1}	No
0.50	6.54	4.49_8	IIa
0.92	9.50	7.84_2	IIb

C.2.3.3. D_A, variable avec le temps et la préparation (fibrinogène)

La figure 15C montre les valeurs expérimentales J_o^2 en fonction du temps, obtenue pour trois expériences effectuées sur le fibrinogène. La fluctuation observée pour les points expérimentaux est nettement plus élevée que dans les autres cas présentés. Si on calcule la régression linéaire J_o^2 en fonction du temps (tracés en pointillés sur la figure 15C), il vient :

	$\bar{c}$ mg.ml^{-1}	$10^7.D_A$ cm^2 s^{-1}
A :	0.52	1.80
B :	0.45	1.52
C :	0.45	1.95

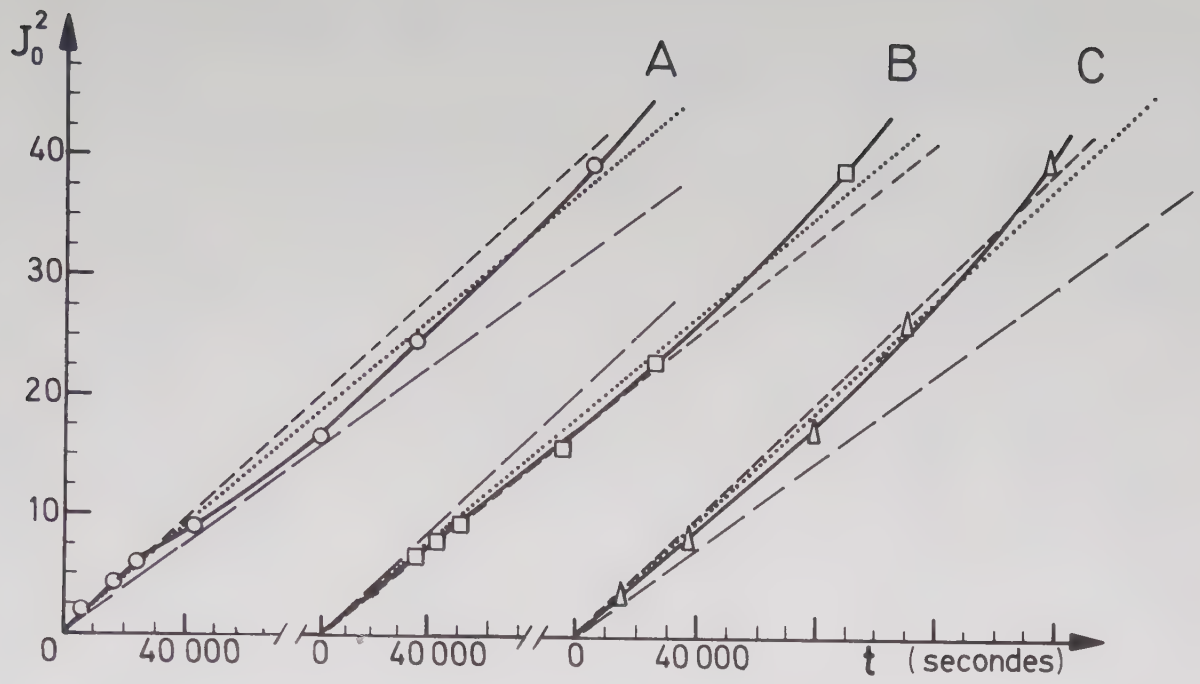


Figure 15C : Variation de la grandeur expérimentale J_o^2 (A.28) en fonction du temps réel t pour trois expériences A,B et C effectuées sur le fibrinogène humain.

..... représente la droite de régression passant par les points expérimentaux (o,□,Δ) dans chaque cas.

----- représente la droite de régression correspondant à un coefficient de diffusion moyen $D_A = 1.89.10^{-7}$ $cm^2.sec^{-1}$.

— — représente la droite de régression correspondant à un coefficient de diffusion moyen $D_A = 1.52.10^{-7}$ $cm^2.sec^{-1}$.

——— lient les points expérimentaux entre eux.

Ceci permet d'estimer l'erreur sur le temps Δt . Après avoir corrigé le temps, nous calculerons pour chaque temps le coefficient de diffusion apparent :

$$D_{app} = J_o^2 / 4 \pi t$$

Il vient successivement :

	$10^7.D_{app}(cm^2s^{-1})$		$10^7 D_{app}(cm^2s^{-1})$		$10^7.D_{app}(cm^2s^{-1})$
6 552	1.90	31 467	1.60	14 660	1.80
13 368	1.92	38 818	1.56	36 710	1.75
23 711	1.89	46 154	1.56	79 130	1.76
87 230	1.48	78 513	1.59	109 280	2.02
114 410	1.70	109 810	1.70	157 220	1.99
174 509	1.80	173 400	1.77		

Il faut donc remarquer la variation du coefficient de diffusion en fonction du temps.

C.2.4. ETUDE DE LA FONCTION DE DEVIATION MOYENNE $\Omega(\zeta)$

C.2.4.1. Variation de $\Omega(\zeta)$ avec le temps

Comme nous l'avions dit (A.1.8.), la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ est sensible aux imperfections de la frontière. La figure 16C montre ainsi la disparition avec le temps des imperfections initiales dans les expériences effectuées avec les protéines plastidiales. Le temps à atteindre pour cela est d'autant plus grand que la diffusion est plus lente. La variation de $\Omega(\zeta)$ avec le temps, comme l'erreur sur le temps initial ou l'étude des caractéristiques géométriques des diagrammes de diffusion, permet d'apprécier l'ensemble d'une expérience.

C.2.4.2. Etude de Ω_{max}

Les fonctions $\Omega(\zeta)$ calculées dans le cas du saccharose et du cytochrome c sont nulles à la précision expérimentale près, ce qui montre que ces produits sont sensiblement purs. Il n'en va pas de même pour les protéines plastidiales et le fibrinogène.

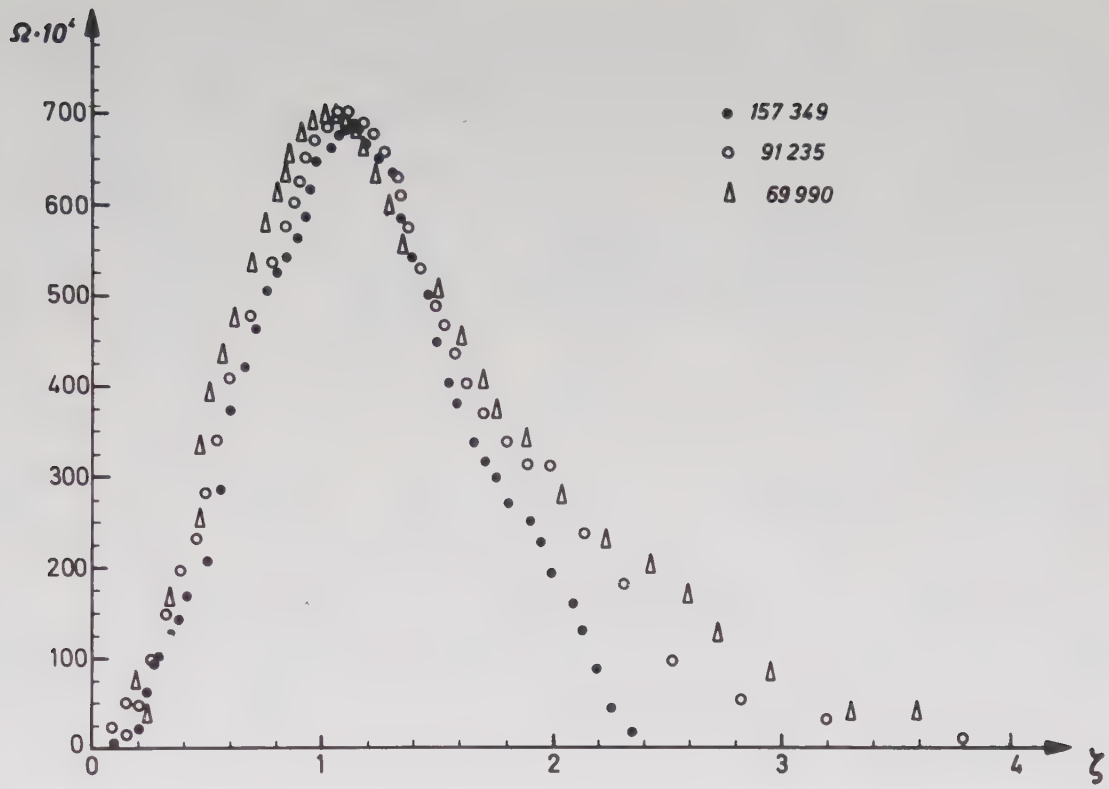


Figure 16C : Variation de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ avec le temps (69990 à 157349 secondes).

C.2.4.2.1. Protéines plastidiales

Les valeurs expérimentales $\Omega(\zeta)$ ont été représentées sur la figure 17C : la concordance entre les deux expériences Ia et Ib est particulièrement nette. Les valeurs obtenues aux temps élevés sont seules significatives :

No	t(s.)	$10^7.D_A cm^2 s^{-1}$	$10^4.\Omega_{max}$	ζ_{max}	$10^7.D_1 cm^2 s^{-1}$	$10^7.D_2 cm^2 s^{-1}$
Ia	157 349	3.56_3	696	1.11	4.85	5.24
Ib	175 935	3.57_0	720	1.00	4.84	5.05
Ib	154 450	3.57_0	724	1.02	4.94	5.32
IIa	51 247	4.49_8	440	1.10	6.72	10.31

Les valeurs prises par Ω_{max} et ζ_{max} indiquent qu'il s'agit d'un cas de polydispersité discontinue (cf. A.2.4.1.). De plus $\zeta_{max} \cong 1.04$ correspond à la présence d'une quantité plus grande de masses faibles que de masses élevées.

C.2.4.2.2. Fibrinogène

L'étude est effectuée en calculant $(\zeta = z/\sqrt{D_A})$ pour chaque temps (cf. C.2.3.3.)

No	t(s.)	$10^7.D_A cm^2 s^{-1}$	$10^4.\Omega_{max}$	ζ_{max}	$10^7.D_1 cm^2 s^{-1}$	$10^7.D_2 cm^2 s^{-1}$
A	114 410	1.70	1050	1.20	4.14	9.18
B	109 660	1.70	550	1.07	2.62	3.81
C	157 220	1.99	350	1.15	2.19	2.55

Les valeurs $\Omega(\zeta)$ varient très largement d'une expérience à une autre. Dans les cas A et B , on est en présence de distribution nettement discontinue, dans le cas C il est plus difficile de qualifier la distribution car on tend vers les valeurs intermédiaires de $\Omega(\zeta)$.

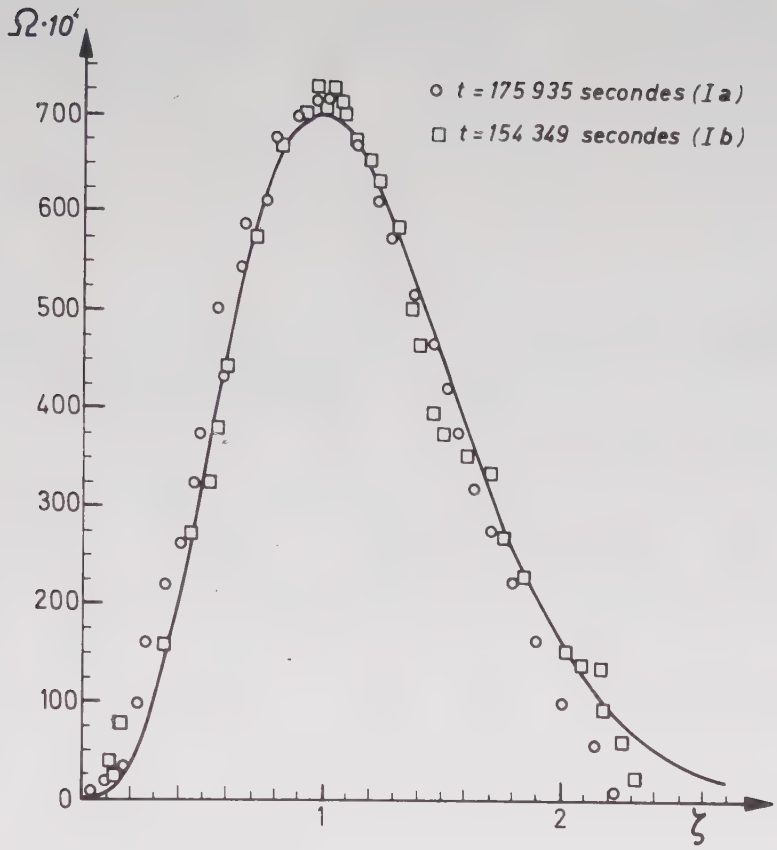


Figure 17C : Représentation de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$, à des temps longs, pour deux expériences différentes sur les protéines plastidiales (I_a et I_b).

Le trait plein représente la fonction $\Omega(\zeta)$, calculée à partir de la distribution obtenue (C.1).

C.2.5. POLYDISPERSITE DISCONTINUE

C.2.5.1. Protéines plastidiales

Etant donné l'homogénéité des résultats obtenus aux temps longs (Ia, Ib), la décomposition en sommes d'exponentielles après dérivation des fonctions $\varphi(z)$ a été essayée. Il vient :

$$c_1 = 0.88 \qquad d_1 = 5.7\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$$
$$c_2 = 0.12 \qquad d_2 = 6.0\ 10^{-8}\ cm^2\ s^{-1} \qquad (C.1.)$$

En partant de ces valeurs, il est possible de calculer les diverses caractéristiques de la distribution (programme CHATONS). Le tableau suivant permet de comparer les valeurs obtenues précédemment aux valeurs ainsi calculées :

	$D_A.10^7$ $cm^2 s^{-1}$	$D_1.10^7$ $cm^2 s^{-1}$	$D_2.10^7$ $cm^2 s^{-1}$	$\Omega_{max} 10^4$	ζ_{max}
Valeurs expérimentales	3.55	4.88	5.20	713	1.04
Valeurs à partir de (C.1)	3.66	5.11	5.38	701	0.985

Sur la figure 17C, la courbe en trait plein représente la fonction $\Omega(\zeta)$ calculée à partir de la distribution (C.1).

Ce résultat montre l'intérêt de la méthode développée : la connaissance du coefficient de diffusion n'est pas suffisante en général pour qualifier la solution étudiée. L'accord entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées justifie les développements mathématiques de la partie A .

C.2.5.2. Fibrinogène

La méthode utilisée précédemment a été essayée pour les temps les plus élevés des expériences sur le fibrinogène. Le procédé de décomposition en sommes d'exponentielles est exécuté par recouvrement des points expérimentaux en utilisant le critère des moindres carrés. Pour les valeurs élevées de $z\ (= x/\sqrt{4\ t})$, la précision

expérimentale est faible : $j(x)$ est voisin de zéro ou de l'unité . Il est donc nécessaire soit de mesurer $j(x)$ pour des valeurs très rapprochées de x , soit de faire la moyenne de plusieurs lectures. La deuxième solution n'est pas applicable par suite des variations de $\Omega(\varsigma)$ dans le cas du fibrinogène à la différence des protéines plastidiales, la première solution est un travail extrêmement fastidieux. Pour comprendre les résultats obtenus pour le fibrinogène, nous ferons appel à d'autres méthodes physico-chimiques.

C.2.6. PRECISION DES RESULTATS

Comme nous l'avons montré (B.4.2.), la précision des résultats dépend essentiellement de celle du pointé à la lecture ($\pm 10^{-4}$cm) et de l'alignement des clichés.

Ainsi pour le nombre différentiel maximal de longueur d'onde J (C.2.2.1.), la précision est bien de $\pm$ 0.04. L'existence de valeurs, débordant de ces limites, provient sans doute d'erreurs d'alignement du cliché par insuffisance du nombre de pointés enregistrés. La fonction d'onde $j(x)$ est connue à $\pm$ 0.01 franges. L'insuffisance passagère du pointé est éliminée facilement par un lissage de la fonction d'onde pour le calcul de la dérivée au point d'inflexion (Figure 5C). La fonction $\varphi(z)$ (A.11) est alors connue à $\pm\ 2.10^{-3}$ en moyenne, avec les restrictions indiquées en C.2.5.2. pour les grandes valeurs de z .

Le gradient Δn d'indice de réfraction est déterminé avec une précision de 10^{-7} à $5\ 10^{-8}$ unités d'indice, tandis que, dans le rapport $\Delta n / \Delta c$, la mesure de la concentration limite la précision à trois chiffres significatifs.

Le décalage de l'origine des temps Δt peut varier de quelques dizaines à quelques milliers de secondes. Ceci n'a en fait aucune influence sur la valeur du coefficient de diffusion moyen D_A, étant donné la méthode employée pour son calcul, ni sur la valeur des fonctions $\varphi(z)$ ou $\Omega(\varsigma)$ aux temps élevés ($t = 150\ 000$ secondes).

On connait les caractéristiques géométriques des diagrammes de diffusion (Figure 13C) à une précision de $\pm\ 40.10^{-4}$cm, ce qui entraine une erreur de $\pm$ 0.01 sur les valeurs de ς dans le cas où $t = 200\ 000$ secondes et $D_A = 2.10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$.

La valeur du coefficient de diffusion moyen D_A est obtenu avec deux ou trois chiffres significatifs suivant le nombre de points mesurés pour calculer la régression linéaire J_o^2 en fonction du temps. La précision sur la fonction de déviation moyenne $\Omega(\zeta)$ peut être comprise entre $\pm 20.10^{-4}$ et $\pm 50.10^{-4}$, en tenant compte des résultats obtenus sur l'ensemble. Or, comme nous l'avons vu dans le cas des protéines plastidiales, le recouvrement des valeurs $\Omega(\zeta)$, pour deux expériences, indique que la précision atteinte est sans doute plus grande (Figure 17C).

Enfin, en signalant à nouveau les limites techniques de la lecture quant à la précision, deux conclusions doivent être tirées des résultats obtenus. D'une part les procédés mathématiques développés dans le cas de la polydispersité discontinue nécessitent sans doute une automation plus poussée de la lecture des clichés. D'autre part les limites rencontrées dans le développement mathématique de la théorie de la diffusion de translation pour la polydispersité discontinue laissent entrevoir l'intérêt qu'il y aurait à formuler le problème de manière à utiliser davantage la capacité itérative des ordinateurs.

C.2.7. ANALYSE HOMOGENE

C.2.7.1. Protéines plastidiales

L'ensemble des résultats obtenus a permis de constater que :

. Les solutions étudiées peuvent différer d'une préparation à une autre (coefficients de diffusion moyen D_A différents).

. Les solutions étudiées ont une distribution discontinue ($\Omega_{max} \geq 300\ 10^{-4}$ et $\zeta_{max} \neq 1.22$).

La distribution, établie en C.2.5.1., montre la présence de deux groupes principaux de masses totalement différentes ($M_1 \simeq 30\ 000$, $M_2 \simeq 3\ 000\ 000$). L'étude par ultracentrifugation des mêmes produits indique la présence d'un seul pic : $S_{20°C,w} = 2.85$ [55] , qui correspond à M_1 . Il faut admettre que les produits de masse moyenne M_2 sont "cassés" par l'ensemble des forces mises en jeu par cette méthode. En effet, une étude par diffusion de la lumière, exécutée par A. LUZZATI, conclut à la présence de produits de masse élevée : $M_w = 3$ à 4.10^6. Enfin des photographies récentes de microscopie électronique ont révélé la présence d'agrégats dont la nature reste encore à préciser.

C.2.7.2. Fibrinogène

Pour vérifier la réalité de l'évolution des solutions de fibrinogène au cours du temps constatée en diffusion de translation, il est nécessaire d'analyser ces mêmes solutions dans les mêmes états par des méthodes différentes. Ce travail a été exécuté en ultracentrifugation par Y. ARNAUD et L. LEROUX et sur des gels de polyacrylamide par B. SARRAZIN.

L'expérience A est effectuée après une dialyse modérée (15 heures) à froid (4°C) contre le tampon. La première partie de la courbe A (Figure 15C) correspond à un coefficient de diffusion moyen, égal à $1.89\ 10^{-7} cm^2\ s^{-1}$. La Figure 18C montre l'image obtenue par ultracentrifugation : le produit (F_2) est pratiquement pur (l'impureté $2(F_2)$ est négligeable). La formule de SVEDBERG [4] permet d'obtenir la masse correspondante :

$$M = \frac{0.243}{1-\bar{v}} \frac{S}{D} 10^{-2} = 346\ 000$$

où $S^{\circ}_{20,w} = 7.5$ Svedbergs

$D^{\circ}_{20,w} = 1.89\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$

$(1-\bar{v}) = 0.28$ où $\bar{v}$ est le volume spécifique partiel (= 0.71).

Cette valeur correspondrait à la valeur admise pour la fraction (F_2) du fibrinogène, qui serait elle-même composée de deux sous-éléments identiques [56].

Après une journée, le coefficient de diffusion tend à décroitre jusqu'à $D_A = 1.52\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$. Le produit se polymérise spontanément. Ceci est vérifié par l'étude de la sédimentation (Figure 19C) d'un produit laissé plus de 30 heures à la température ambiante (T = 20°C) : on voit nettement la fraction $2(F_2)$. Si le coefficient de diffusion moyen obtenu est dû au mélange de monomères ($1.89\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$) et de dimères ($1.25\ 10^{-7}\ cm^2\ s^{-1}$), la relation (A.80) permet d'en calculer les proportions respectives :

$$\frac{1}{\sqrt{D_A}} = \frac{c_1}{\sqrt{d_1}} + \frac{c_2}{\sqrt{d_2}} \qquad c_1 + c_2 = 1 \quad (A.80)$$

$c_1 = 67\ \%$ monomère $\qquad c_2 = 33\ \%$ dimère

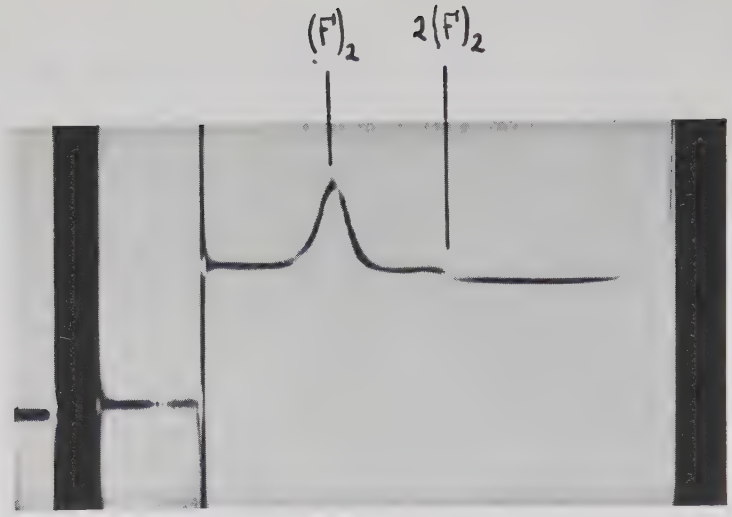


Figure 18C : Solution fraîche .
Photo : 32 minutes

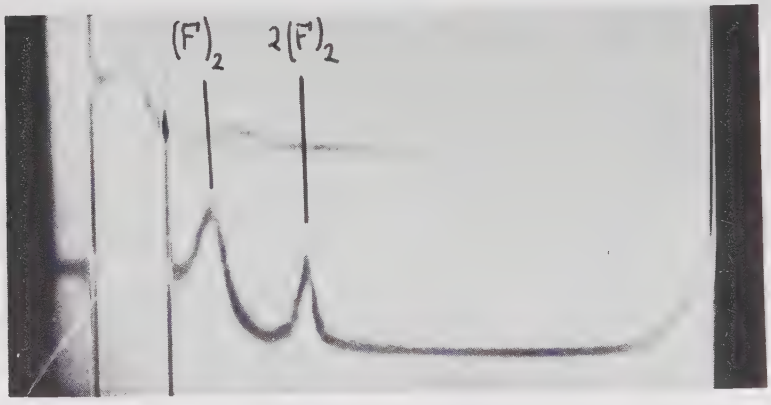


Figure 19C : Même solution aprés 45 heures à 20°C
Photo : 18 minutes

Figure 20C : Même solution après 24 heures à 37°C
Photo : 24 minutes

Centrifugations analytiques de fibrinogène humain:

Concentration 4 $mg.ml^{-1}$. Tampon Sorensen.
Vitesse : 59780 R.P.M.

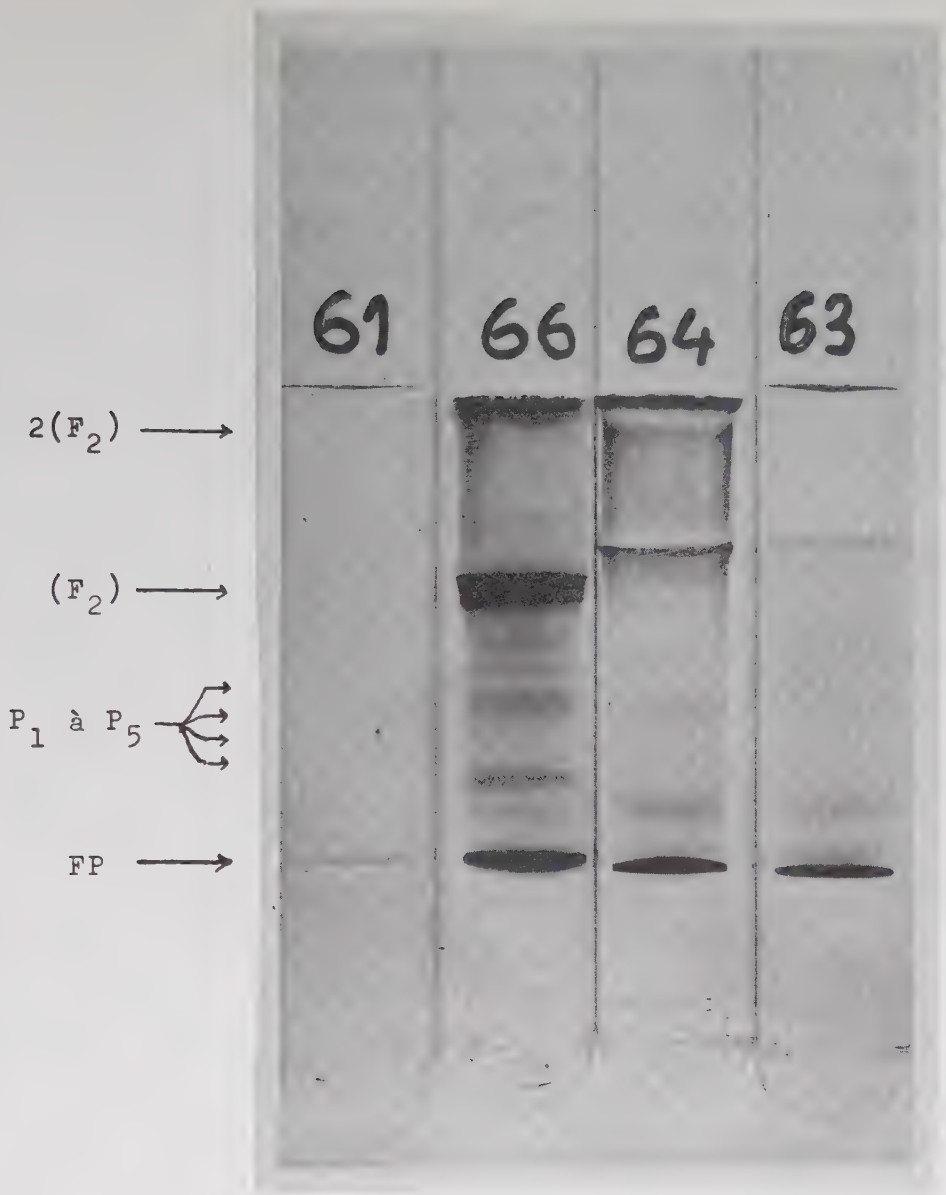


Figure 21C : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide de Fibrinogène humain.

61 : Gel témoin.
66 : Solution fraîchement préparée.
64 : Même solution après 30 heures à 37°C.
63 : Même solution après 45 heures à 37°C.
FP : Fibrinopeptides
P_1 à P_5 : Protéines plasmatiques [57].

L'expérience A se poursuit ; on observe à nouveau un accroissement du coefficient de diffusion moyen. Le fibrinogène subit une dégradation naturelle, la fibrinolyse, qui est dûe à des enzymes protéolytiques (plasminogène-plasmine) non éliminés de la préparation [57]. Après plusieurs jours à la température ambiante, cette protéolyse l'emporte sur la polymérisation spontanée évoquée plus haut et introduit dans le système un nombre de molécules de taille plus petite qui explique l'augmentation de la valeur du coefficient de diffusion. Cette interprétation est vérifiée par les images de centrifugation analytique (Figure 20C) et par les gels de polyacrylamide (Figure 21C). Sur ces figures, la fibrinolyse est plus avancée qu'à la fin de l'expérience A. L'expérience B est effectuée après une dialyse plus longue et la diffusion commence directement par la phase de polymérisation pour aboutir au début de la fibrinolyse. L'expérience C est effectuée sur le même produit que B mais ce produit est resté environ trois jours à la température ambiante : la diffusion décrit alors le mécanisme lent de la fibrinolyse. La présence de nombreux composants est d'ailleurs confirmée par la valeur prise par Ω_{max} ($= 350.10^4$). L'évolution de Ω_{max} pour les trois expériences traduit bien la transformation de la distribution étudiée au cours du temps, c'est à dire le passage d'une distribution nettement discontinue à une distribution continue.

CONCLUSION

Nous nous étions proposé , dans ce travail, de développer la technique de diffusion de translation par interférométrie de Rayleigh afin d'analyser l'état des macromolécules biologiques en solution. Nous sommes parvenu à surmonter les problèmes techniques posés par la mise en oeuvre de notre projet. La cellule de diffusion à écoulement laminaire latéral, choisie pour sa facilité d'emploi, l'utilisation d'électrovannes et de débitmètres permet d'obtenir des frontières reproductibles avec des molécules de masses très différentes. Nous avons simplifié le réglage de l'optique et la mesure du grandissement vertical de l'interféromètre au moyen de dispositifs appropriés (B.1.2.1. et B.1.1.2). La grande sensibilité de cette technique permet de déceler des variations d'indice de réfraction d'environ 5.10^{-8} à 10^{-7} unités d'indice. Le dépouillement systématique des clichés de diffusion, qui a constitué pendant longtemps le facteur limitant toute étude systématique approfondie, est devenu possible grâce à la mise au point d'un procédé semi-automatique de numérisation. Nous avons également élaboré des programmes qui, à partir des résultats expérimentaux, permettent d'aboutir à la description plus ou moins détaillée de l'état des molécules en solution. Un effort particulier a été fait pour présenter les résultats sous une forme concise, immédiatement utilisable (Figures 8C).

Le choix de l'étude de la diffusion aux faibles concentrations est justifié car, dans ce cas, il existe bien une relation linéaire observée entre l'indice de réfraction et la concentration. De plus cette dernière n'intervient ni sur la valeur des moyennes des coefficients de diffusion, ni sur celles des fonctions de déviation moyenne $\Omega(\mathcal{Y})$. L'erreur sur le temps initial, la variation globale des diagrammes de diffusion, les caractéristiques géométriques de ces derniers (cf. C.1) décrivent la qualité et la reproductibilité d'une expérience. La mesure du coefficient de diffusion moyen D_A pour des produits différents s'avère en général insuffisant. C'est pourquoi il nous a paru nécessaire de procéder à une analyse plus fine des résultats. L'étude de la fonction de déviation moyenne $\Omega(\mathcal{Y})$, pour des temps longs, permet une estimation de la polydispersité.

Si les valeurs prises par $\Omega(\gamma)$ sont pratiquement nulles ($\Omega(\gamma) \simeq 20.10^{-4}$), le coefficient de diffusion mesuré peut être considéré comme celui d'une macromolécule unique. Dans le cas contraire, les développements théoriques et les résultats expérimentaux obtenus permettent de préciser d'une façon générale le caractère continu ou discontinu de la distribution étudiée. Dans le cas de la polydispersité continue, la méthode graphique développée évite le calcul de convolution [cf. A.2.2.3.]. Lorsque la solution contient des produits de masses très différentes, nous pouvons préciser sa composition au moyen d'une décomposition en sommes d'exponentielles après dérivation de la fonction d'onde (cf. C.2). Les erreurs observées sur la mesure du coefficient de diffusion moyen (0.5 %) et surtout sur les valeurs de la fonction $\Omega(\gamma)$ (2 à 3 %) démontrent la grande fiabilité de notre technique. L'ensemble des progrès réalisés permet d'envisager son application courante.

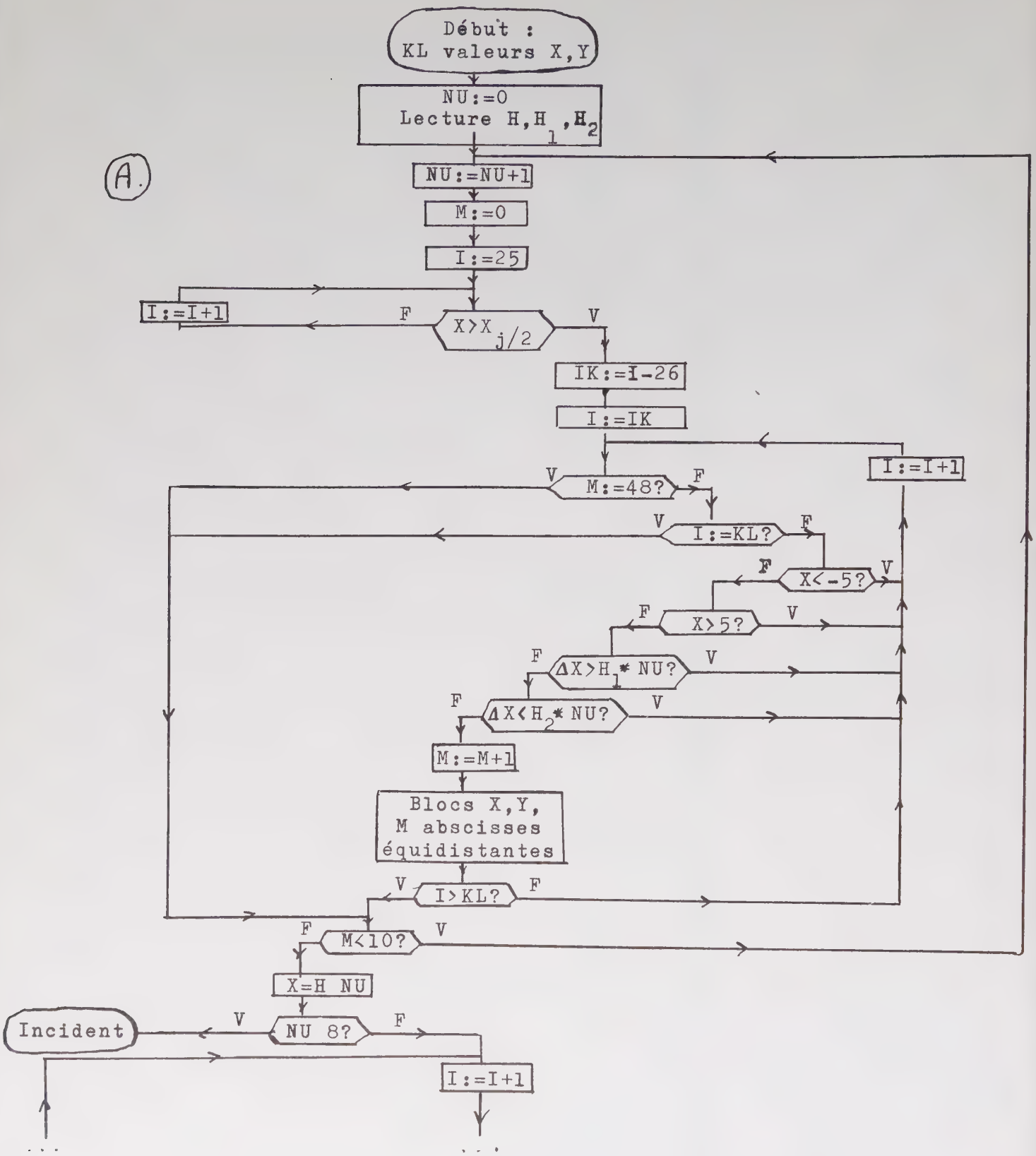
Enfin les résultats obtenus sur les solutions de protéines plastidiales et de fibrinogène humain en soulignent l'intérêt. La variation ou la stabilité d'un produit ou d'une préparation particulière peut être suivie facilement par l'étude de l'évolution de la diffusion au cours du temps pour des expériences successives. De plus les informations fournies par des méthodes aussi différentes que la centrifugation analytique, la diffusion de la lumière, l'électrophorèse sur gel ..., sont souvent divergentes en première analyse. Ainsi la contradiction apparente observée sur les protéines plastidiales entre les résultats d'ultracentrifugation (2.8 Svedbergs) et ceux de diffusion de la lumière (3 à 4 millions pour la masse moyenne M_w) est levée par la diffusion de translation. La solution étudiée contient deux composés importants ($M_1 \simeq 30\,000$ et $M_2 \simeq 3\ 10^6$) dans des proportions fort différentes (85 % et 12 % respectivement). Les perturbations mises en jeu en sédimentation analytique ne permettent dans ce cas d'observer que les composants de masse moléculaire faible alors que pratiquement seuls les composants de masse moléculaire élevée sont distingués par diffusion de la lumière. Ainsi la diffusion libre de translation, en décrivant l'état des macromolécules en solutions, permet également de comprendre l'influence des perturbations mises en jeu par d'autres méthodes et partant de faciliter l'analyse homogène des résultats.

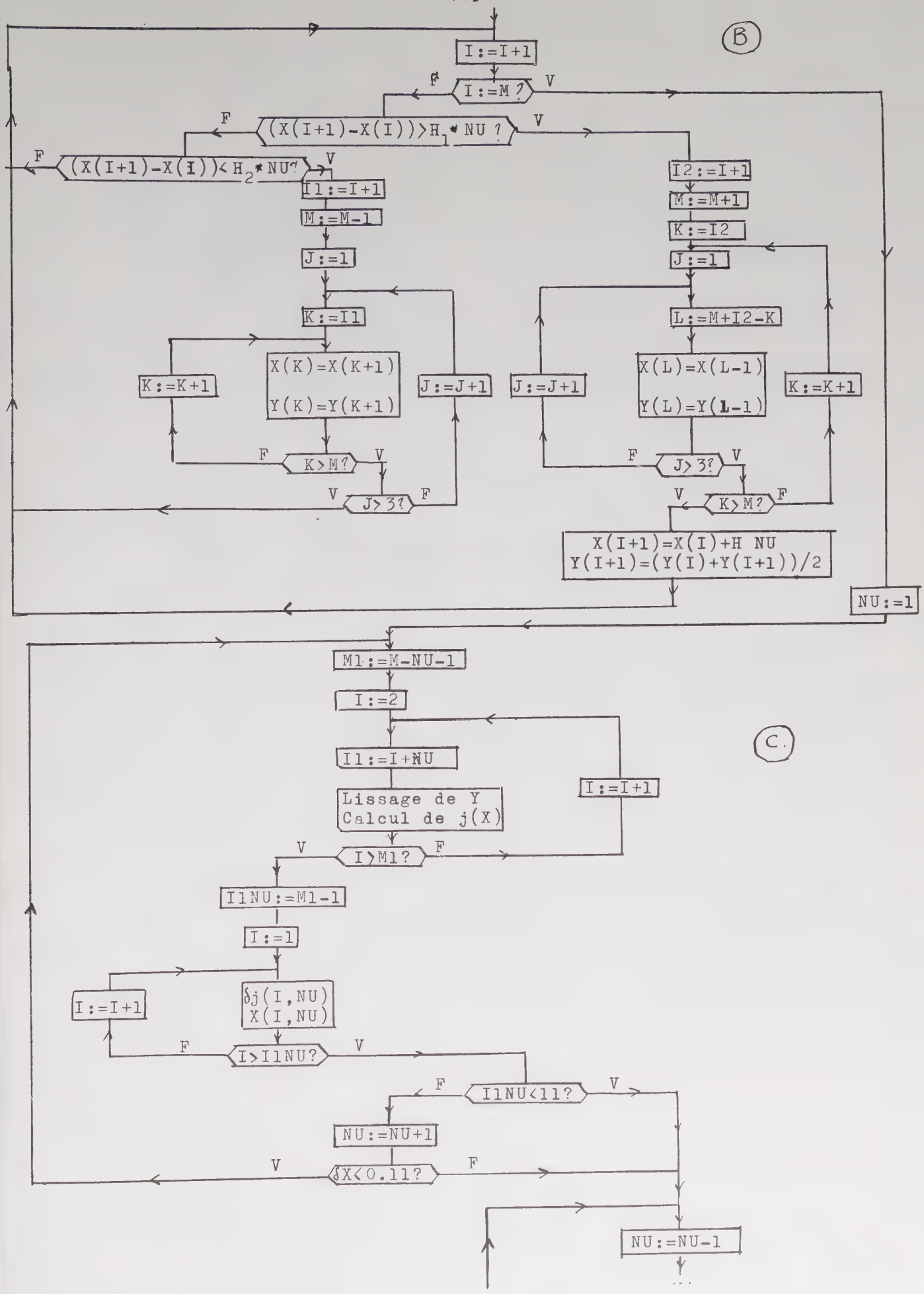
ANNEXE - Description détaillée du segment D2 .

```
                SUBROUTINE D2(IG,IC)
000005          COMMON/EXEMPL/Z1(200,2,10),KZ1(10)
000005          COMMON/GENERA/XYL(250,2),KL,DJD(3,2)
000005          COMMON/GFUER1/CCKY(100),CNUMER(5),TT(10),INU
000005          COMMON/SORTIE/GGA,SM(2),DJ,CMUN,NIFMAX(20),KKK(20),DELTA2(20),
                1ORDORI,DELTAX,NU
000005          COMMON/DERIVE/DY(100),A(4)
000005          DIMENSION X(50,20),Y(50,20),I11(20)
000005          DIMENSIONNIF(50),XXX(50),DIFM(50),XYL1(20,2),XY(50,2)
000005          DIMENSION G(20,6),IA(4),W(20)
                C     RECHERCHE DES M CONSTANTS
000005          NU=0
000006          M=5.6ARE-03
000007          M1=6.25E-03
000011          M2=4.75E-03
000012  101     NU=NU+1
000014          M=6
000015          DO41I=25,KL
000016          IF(XYL(I,1).GE.DJD(1,1)) GO TO 42
000021  41      CONTINUE
000023  42      IK=I-26
000025          DO7I=IK,KL
000026          IF(M.EQ.48) GO TO 1011
000030          IF(I.EQ.KL) GO TO 1011
000032          IF(XYL(I,1).LT.(-.5 )) GO TO 7
000034          IF(XYL(I,1).GT.(.5 )) GO TO 7
000040          IF((XYL(I+1,1)-XYL(I,1)).GT.(M1*NU)) GO TO 7
000046          IF((XYL(I+1,1)-XYL(I,1)).LT.(M2*NU)) GO TO 7
000053          M=M+1
000054          XY(M,1)=XYL(I,1)
000057          XY(M,2)=XYL(I,2)
000060  7       CONTINUE
000063  1011    IF(M.LT.10) GO TO 101
000066          DELTAX=M*NU
000070          IF(NU.EQ.8) GO TO 2222
000072          DO30I=1,M
000073          IF(I.EQ.M) GO TO 1012
000075          IF((XY(I+1,1)-XY(I,1)).GT.(M1*NU)) GO TO 31
000103          IF((XY(I+1,1)-XY(I,1)).LT.(M2*NU)) GO TO 33
000110          GO TO 30
000110  31      I2=I+2
000112          M=M+1
000114          DO32K=I2,M
000116           DO32J=1,2
000117          L=M+I2-K
000122  32      XY(L,J)=XY(L-1,J)
000133          XY(I+1,1)=XY(I,1)+M*NU
000140          XY(I+1,2)=(XY(I,2)+XY(I+1,2))/2
000143          GO TO 30
000144  33      I1=I+1
000146          M=K-1
000147          DO34J=1,2
000151          DO34K=I1,M
000153  34      XY(K,J)=XY(K+1,J)
000166  30      CONTINUE
000171  1012    CONTINUE
                C     DIFFERENTIATION NACH SUNDELOF

SACLAY
D C E

000171          NU=1
000172  11      CONTINUE
000172          M1=M-NU-1
000175          DO10I=2,M1
000176          I1=I+NU
000200          DIF(I)=(XY(I1,2)-XY(I,2)+XY(I1+1,2)-XY(I+1,2)+XY(I1-1,2)-
                1XY(I-1,2))/3
000212          XXX(I)=(XY(I1,1)+XY(I,1))/2
000216  10      CONTINUE
000220  100     FORMAT(1H1)
000220          I1NU=M1-1
000222          I11(NU)=I1NU
000224          DO11I=1,I1NU
000226          X(I,NU)=XXX(I+1)
000232          Y(I,NU)=DIF(I+1)
000236  1       CONTINUE
000240          IF(I1NU.LT.11) GO TO 6
000242          NU=NU+1
000244          IF((M+NU).LT.(6.I1)) GO TO 11
000247  6       NU=NU-1
000251          DO12I=1,NU
000252          I1NU=I11(I)
000254          DO16K=1,I1NU
000256          IF(X(K+1).GT.DJD(1,1)) GO TO 13
000263  16      CONTINUE
000265  13      K0=K-5
000267          IF(K0.EQ.0) GO TO 6
000270          IF((I1NU-K).LT.6) GO TO 38
000273          K1=K+5
000275          IF(K1.GT.I1NU) GO TO 38
000300          DO17K=K0,K1
000301          DIFM(K-K0+1)=Y(K,I)
000310  17      CONTINUE
000312          K01=K1-K0+1
000314          CALL W3(DIFM,K01,50,XMAX,KK)
000320          DIFMAX(I)=XMAX/(DELTAX*I)
000324          KKK(I)=K0+KK-1
000327          DELTA2(I)=(DELTAX*I)**2
000331  12      CONTINUE
000334          GO TO 39
000335  38      NU=I-1
000337  39      CONTINUE
000337          IF(NU.LT.11) GO TO 27
000342          K1=K0+20
000344          GO TO 36
000344  27      CONTINUE
000344  36      CONTINUE
000344          DO43I=1,4
000346  43      IA(I)=1
000351          DO44I=1,NU
000353  44      W(I)=NU-I+1
000360          NO=NU/2
000361          CALL AMAFR(G,NO,A,IA,2,2,DELTA2,NIFMAX,W,NO+1,E-03)
000374          DO18I=1,NU
000377          DY(I)=(A(1)+A(2)*DELTA2(I))/(A(3)+A(4)*DELTA2(I))
000407          XYL1(I,1)=DELTA2(I)
000411          XYL1(I,2)=DIFMAX(I)
000412  18      CONTINUE



000415          CALL A3(XYL1,NU,PENTE,ORDORI,1,20)
000421          DO21I=1,6
000424          I111=I11(I)
000426          DO3J=1+I111
000427          IF(X(J,1).GT.DJD(1,1)) GO TO 4
000435  3       CONTINUE
000437  4       DO5K=1,10
000441          IF((J+K).GE.I111) GO TO 2224
000444          Y(K,I)=Y(J-6+K,I)
000453  5       X(K,I)=X(J-6+K,I)
000460  2       CONTINUE
000462          GOTO 2224
000467  2222    CONTINUE
000467  2224    RETURN
000463          END
```

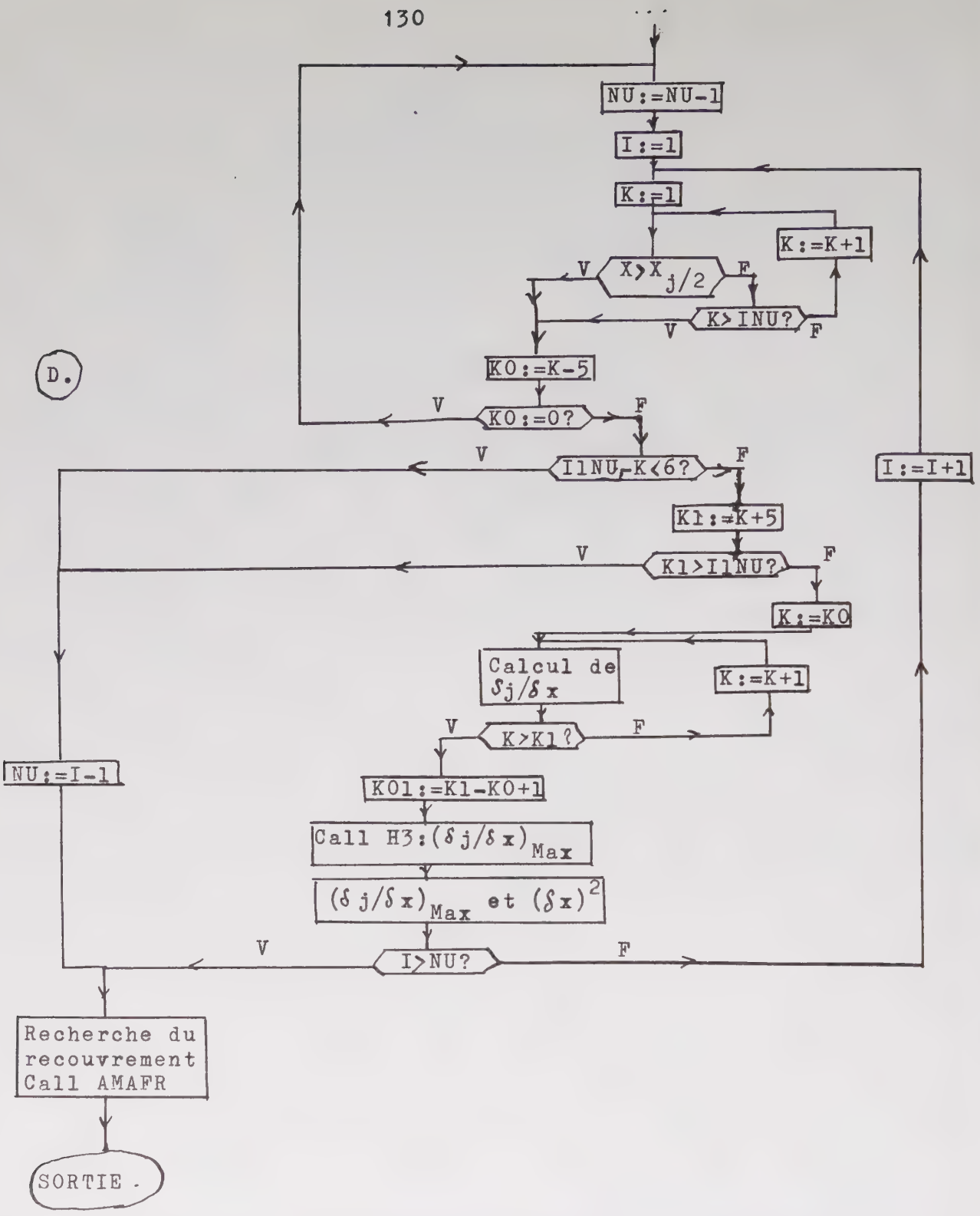
Listing du segment D2, appartenant au bloc DUX.

Organigramme du segment D2 :




B
I:=I+1
I:=M ?
F
V
(X(I+1)-X(I))>H1*NU ?
F
V
(X(I+1)-X(I))<H2*NU?
F
V
I1:=I+1
M:=M-1
J:=1
K:=I1
X(K)=X(K+1)
Y(K)=Y(K+1)
K:=K+1
J:=J+1
K>M?
J>3?
I2:=I+1
M:=M+1
K:=I2
J:=1
L:=M+I2-K
X(L)=X(L-1)
Y(L)=Y(L-1)
J:=J+1
K:=K+1
J>3?
K>M?
X(I+1)=X(I)+H NU
Y(I+1)=(Y(I)+Y(I+1))/2
NU:=1
M1:=M-NU-1
I:=2
I1:=I+NU
Lissage de Y
Calcul de j(X)
I:=I+1
I>M1?
I1NU:=M1-1
I:=1
I:=I+1
δj(I,NU)
X(I,NU)
I>I1NU?
I1NU<11?
NU:=NU+1
δX<0.11?
NU:=NU-1
C.

. . . /. . .



A. Recherche dans le tableau XY des abscisses équidistantes. Calcul de l'intervalle Δx entre deux abscisses consécutives.

B. Elimination des points pour lesquels l'intervalle entre abscisses est inférieure à Δx ou calcul par approximation linéaire des points pour lesquels l'intervalle entre abscisses est supérieur à Δx.

C. Calcul des δj pour différents multiples de δx (<0.11).

D. Recherche du maximum $(\delta j/\delta x)$ pour chaque multiple de δx. Recouvrement de $(\delta j/\delta x)_{Max}$ en fonction de $(\delta x)^2$ par une fraction rationnelle.

BIBLIOGRAPHIE

[0] LEGER, J.J. - 1969 - Rapport C.E.A. R-3833

Diffusion libre de translation des macromolécules en solution, par interférométrie de Rayleigh.

[1] KÖPPEL, G. - 1967 - Zeit, Zellforschung, 77, 443-517

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Gestalt und zum makromolekulanen Bau des Fibrinogenmolekūls und der Fibrinfasern

[2] SÖDERQVIST, T., BLOMBÄCK, B. - 1971 - Naturwiss., 58 (1), 16-23

Fibrinogen structure and evolution.

[3] LEDERER, K., FINKELSTEIN, A. - 1970 - Biopolymers, 9 (12), 1553-1556

Hydrodynamic study of fibrinogen molecular models to test their compatibility with data from the ultracentrifuge and viscosity measurements.

[4] SVEDBERG, T., PEDERSEN, K.O., eds - 1940 - Oxford University Press, London, 478 p.

The ultracentrifuge.

[5] SCHACHMANN, H.K. - 1959 - Academic Press N.Y.

Ultracentrifugation in biochemistry.

SCHACHMANN, H.K. - 1963 - Biochemistry, 2, 887-905

The ultracentrifuge : Problems and Prospects.

[6] SCHUMAKER, V.N., WLODAWER, A., COURTNEY, J.T., DECKER, K.M. - 1970 - Analytical biochemistry, 34, 359-365

Ultracentrifugation at moderate pressures.

KEGELES, G., RHODES, L., BETHUNE, J.L. - 1967 - Proc. Nat. Acad. Sci., 58 (1), 45-51

Sedimentation behavior of chemically reacting systems.

[7] ARNAUD, Y., LEGER, J.J., GRUDA, J. - 1970 - Eur. J. Bioch. 16, 336-341

A propos de l'actomyosine et de quelques unes de ses propriétés physico-chimiques.

[8] SCHERAGA, H.A., MANDELKERN, L. - 1953 - J. Am. Chem. Soc., 75, 179-184

Considération of the hydrodynamic properties of proteins.

[9] CALVET, E. - 1945 - C.R. Acad. Sci., Paris, 220, 597-599

Nouvelle méthode d'étude de la diffusion dans les liquides. Mesure des coefficients de diffusion.

[10] CALVET, E. - 1945 - C.R. Acad. Sci., Paris, 221, 403-405

Diffusion dans les liquides. Obtention directe du réseau des courbes $f(x,t,c) = 0$.

[11] CALVET, E., CHEVALERIAS, R. - 1946 - J. Chim. Phys. 43, 37-53

A new interferometric method for the study of diffusion in liquids.

[12] SVENSSON, H. - 1949 - Acta Chem. Scand., 3, 1170-1178

An interferometric method for recording the refractive index derivative in concentration gradients.

[13] SVENSSON, H. - 1950 - Acta Chem. Scand., 4, 399-403

An optical arrangement for getting simultaneous records of the refractive index and its derivative for stratified solutions.

[14] SVENSSON, H. - 1951 - Acta Chem. Scand., 5, 1410-1412

On the use of Rayleigh - Calvet - Philpot interference fringes for the measurement of diffusion coefficients by the moment method.

[15] CREETH, J.M. - 1955 - J. Amer. Chem. Soc., 77, 6428-6440

Studies of free diffusion in liquids with the Rayleigh method.
I. Determination of differential diffusion coefficients in concentration dependance systems of two components.

CREETH, J.M., GOSTING, L.J. - 1958 - J. Phys. Chem., 62, 58-65

Studies of free diffusion in liquids with the Rayleigh method.
II. An analysis for systems containing two solutes.

CREETH, J.M. - 1958 - J. Phys. Chem., 62, 66-74

Studies of free diffusion in liquids with the Rayleigh method.
III. An analysis of known mixtures and some preliminary investigations with proteins.

[16] DAUNE, M. - 1958 - Thèse (Strasbourg)

Contribution à l'étude de la polydispersité des solutions macromoléculaires.

[17] SUNDELÖF, L. - 1965 - Arkiv För Kemi, 25, nr.1, 1-65

Determination of distributions of molecular size parameters by a convolution procedure : a computational and experimental study with special reference to diffusion at low concentrations.

[18] LEGER, J.J., GITTON, J., LECOUP, J. - 1969 - Brevets N° 6915779 et 6915780

Procédé et dispositif d'analyse de trace. Dispositif de représentation numérique.

[19] ONSAGER, L. - 1945 - Ann. N.Y. Acad. Sci., 46, 241

Theories and problems of liquid diffusion.

[20] BALDWIN, R.L., DUNLOP, P.J., GOSTING, L.J. - 1955 - J. Am. Chem. Soc., 77, 5235-5238

Interacting flows in liquid diffusion : Equations for evaluation of the diffusion coefficients from moments of the refractive index gradient curves.

[21] BOLTZMANN, L. - 1894 - Ann. Physik u. Chem. Wied.,53, 959-964

Zur Integration der Diffusionsgleichung .

[22] SUNDELÖF, L. - 1963 - Arkiv Fōr Kemi, 20, 369-384

Isothermal diffusion in ternary solutions.

DUNLOP, P.J., GOSTING, L.J. - 1955 - J. Am. Chem. Soc., 77, 5238-5249

Interacting flows in liquid diffusion : Expressions for the solute concentration curves in free diffusion and their use in interpreting Gouy diffusometer data for aqueous three-component systems.

FUJITA, H., GOSTING, L.J. - 1956 - J. Am. Chem. Soc., 78, 1099-1106

An exact solution of the equation for free diffusion in three - component systems with interacting flows, and its use in evaluation of the diffusion coefficients.

[23] GOSTING, L.J. - 1956 - Adv. in Prot. Chem. XI, 429-554

Measurement and interpretation of diffusion coefficients of proteins.

[24] TYRREL, H.J.V. - 1961 - London, Butterworths

Diffusion and Heat flow in liquids

[25] KINELL, P.O. - 1959 - Arkiv fōr Kemi, 14, 327-336

On the determination of molecular weight averages from sedimentation and diffusion data.

[26] SVENSSON, H. - 1951 - Acta Chem. Scand., 5, 72-84

On the use of Rayleigh-Philpot-Cook interference fringes for the measurement of diffusion coefficient

[27] AKELEY, D.F., GOSTING, L.J. - 1953 - J. Am. Chem. Soc., 75, 5685-5696

Studies of the diffusion of mixed solutes with the Gouy diffusiometer.

[28] BRYNGDAHL, O. - 1958 - Acta Chem. Scand., 12, 684-700

Interferometric studies of boundary formation and deviations from ideality in diffusion experiments.

[29] EINSTEIN, A. - 1906 - Ann. Physik, 17, 549-560

Über die von der molekularkinetischen Theorie der Warme geforderte Bewegung von in ruhrenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen.

EINSTEIN, A. - 1906 - Ann. Physik, 19, 371-381

Zur Theorie der Brownschen Bewegung.

SMOLUCHOWSKI, M. von - 1906 - Ann. Physik, 21, 756

Determination of diffusivity

[30] TANFORD, C.H. - 1961 - John Wiley and sons. INC. N.Y.

Physical chemistry of macromolecules

JACOB, M. et DAUNE, M. - 1964 - J. Chim. Phys., 125, 1400-1408

Détermination de la solvatation préférentielle des polymères par les mesures hydrodynamiques.

[31] Handbook of biochemistry, selected data for molecular biology - 1968 - H.A. Sober. The chemical rubber. Co.

[32] RYSHIK, I.M., GRADSTEIN, I.S. - 1957 - Summen , Produkt - und Integraltafeln. VEB deustcher Verlag der Wissenschaften.

[33] MINEUR - 1952 - Béranger

Technique de calcul numérique

KRYLOV - 1962 - Mac-Millan

Approximate calculation of integrals

BUCKINGHAM - 1962 - Pitt

Numerical methods

HOOKE, R., JEEVES, T.A. - 1961 - Journal of the association for computing machinery, 8 , p. 212-229

[34] DAUNE, M., BENOIT, M. - 1954 - J. Chim. Phys., 51, 233-239

Etude de l'effet de la polydispersité et de la concentration sur la diffusion de translation.

[35] DAUNE, M., FREUND, L. - 1957 - J. Polymer. Sci., 23, 115

[36] CLAESSON, S. - 1949 - Arkiv Kemi Mineral. Geol. A26, N° 24

[37] SNEDDON, I.N. - 1955 - Funktional Analysis

Handbuch der Physik. II. Springer Verlag. Berlin.

FILON, L.N.G. - 1 - Proc. Roy. Soc. Edinburgh A49, 38, 1928-1929

[38] CASEAU, MEIGNANT - 1966 - CEN/FAR Rapport N°19

Zeros de polynomes. Méthode de Muller.

[39] ZILLER, A. - 1955 - Méthodes de différentiation et d'intégration numériques. Service de documentation et d'information technique de l'aéronautique. PARIS

[40] SCHEIBLING, G. - 1950 - J. Chim. Phys., 47, 688-692

Measurement of diffusion coefficients.

[41] TOURANCHEAU, J. - 1966 - Thèse Université de Lyon

Mesure du coefficient de diffusion entre -34°C et 61°C. Application à l'étude structurale des solutions diluées.

LONGSWORTH, L.G. - 1950 - Rev. Sci. Instr., 21, 524-528

Tests of flowing junctiun diffusion cells with interference methods.

KAHN, D.S., POLSON, A. - 1947 - J. Phys. and Colloïd Chem., 51, 816-825

Formation of sharp boundaries in diffusion experiments.

[42] Debitmètre BROOKS

[43] SVENSSON, H. - 1954 - Opt. Acta, 1, 25-32

The second - order observations in the interferometric measurement of concentration gradients.

[44] SVENSSON, H. - 1956 - Opt. Acta, 3, 164-183

The third-order observations in the interferometric measurement of concentration gradients.

[45] Appareil pour électrophorèse Fokal B. Strubin Basel (CH)

TISELIUS - 1937 - Trans. Faraday Soc. 33, 524

[46] WIEDEMANN, E. - 1952 - Helv. Chim. Acta, 35, 2314-2322

Die interferometriche Aufzeichnung von Brechungsindex - Gradienten-Kurven $\frac{dn}{dx}/x$ - Diagrammen.

[47] DONNAN, F.G. - 1911 - Z. Elektrochem., 17, 572

[48] Grand microscope microcomparateur d'atelier. U.W.M. LEITZ

[49] LEGER, J.J. - 1971 - (à paraître)

Description des programmes mis au point pour l'étude de la diffusion de translation par interférométrie de Rayleigh.

[50] BORN, M., WOLF, E. - 1965 - Pergamon Press

Principles of optics

[51] BUTT, W.D., KEILIN, D. - 1962 - Proc. Roy. Soc. (London), B 156, 429-458

Absorption spectra and some other properties of cytochrome c and of its compounds with lyands.

[52] LAGOUTTE, B. - 1970 - D.E.A. de biochimie

Etude comparative des protéines des structures plastidiales des chloroplastes et des plastes étiolés chez ZEA MAY

[53] GOSTING, L.J., MORRIS, M.S. - 1950 - J. Am. Chem. Soc., 71, 1998-2006

Diffusion studies on dilute aqueous sucrose solutions at 1° and 25° with the Gouy interference method.

[54] EHRENBERG - 1957 - Acta Chem. Scand. 11, 1257

[55] LAGOUTTE, B., DURANTON, J. - 1971 - (soumis à B.B.A.)
Physico-chemical study of chloroplast structural proteins from ZEA MAYS L. .

[56] CAPET-ANTONINI, F., - 1968 - Thèse (Paris)
Contribution à l'étude de la structure du fibrinogène

[57] MOSESSON, M.W., - 1962 - B.B.A., 57, 204-213
The preparation of human fibrinogen free of plasminogen